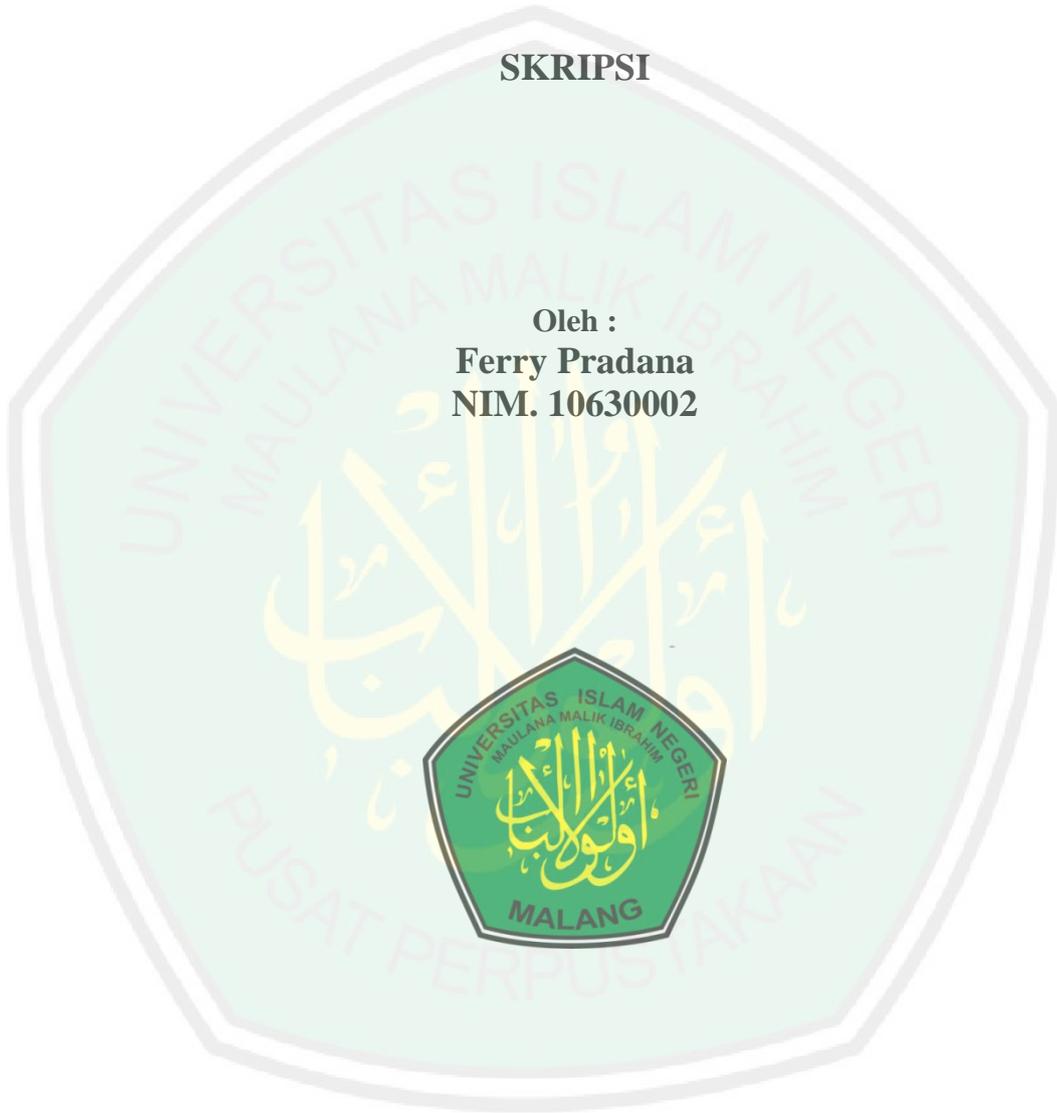


**IDENTIFIKASI FLAVONOID DENGAN PEREAKSI GESER
DAN PENGARUH EKSTRAK ETANOL 70 % UMBI
BINAHONG (*Anredara Cordifolia* (Ten.) Steenis) TERHADAP
KADAR GLUKOSA DARAH TIKUS INDUKSI ALOKSAN**

SKRIPSI

Oleh :
Ferry Pradana
NIM. 10630002



**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI (UIN)
MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2014**

**IDENTIFIKASI FLAVONOID DENGAN PEREAKSI GESER
DAN PENGARUH EKSTRAK ETANOL 70 % UMBI
BINAHONG (*Anredara Cordifolia* (Ten.) Steenis) TERHADAP
KADAR GLUKOSA DARAH TIKUS INDUKSI ALOKSAN**

SKRIPSI

**Diajukan Kepada:
Fakltas Sains Dan Teknologi
Universitas Islam Negeri (UIN) Malang
Untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan Dalam
Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S. Si)**

**Oleh:
Ferry Pradana
10630002**

**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI (UIN)
MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2014**

**IDENTIFIKASI FLAVONOID DENGAN PEREAKSI GESER DAN
PENGARUH EKSTRAK ETANOL 70 % UMBI BINAHONG (*Anredara
Cordifolia* (Ten.) Steenis) TERHADAP KADAR GLUKOSA DARAH TIKUS
INDUKSI ALOKSAN**

SKRIPSI

Oleh :
Ferry Pradana
NIM. 10630002

Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji :
Tanggal : 8 September 2014

Pembimbing I

Elok Kamilah Hayati, M. Si
NIP. 19790620 200604 2 002

Pembimbing II

A.Ghanaim Fasya, M. Si
NIP. 19820616 2006 1 002

Mengetahui,
Ketua Jurusan Kimia
Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang



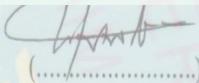
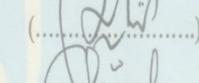
Elok Kamilah Hayati, M.Si
NIP. 19790620 200604 2 002

**IDENTIFIKASI FLAVONOID DENGAN PEREAKSI GESER DAN
PENGARUH EKSTRAK ETANOL 70 % UMBI BINAHONG (*Anredara
Cordifolia* (Ten.) Steenis) TERHADAP KADAR GLUKOSA DARAH TIKUS
INDUKSI ALOKSAN**

SKRIPSI

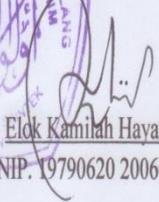
Oleh :
FERRY PRADANA
NIM. 10630002

Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi
dan Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan Untuk Memperoleh
Gelar Sarjana Sains (S.Si)
Tanggal: 8 September 2014

Penguji Utama	: Tri Kustono Adi, M.Sc NIP. 19710311 200312 1002	
Ketua Penguji	: Akyunul Jannah, M.P NIP. 19750410 20050 12 009	
Sekretaris Penguji	: Elok Kamilah Hayati, M. Si NIP. 19790620 200604 2 002	
Anggota Penguji	: A. Ghanaim Fasya, M. Si NIP. 19820616 200604 1 002	

Mengesahkan,
Ketua Jurusan Kimia
Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang




Elok Kamilah Hayati, M.Si
NIP. 19790620 200604 2 002

LEMBAR PERSEMBAHAN

Alhamdulillahirobbil'aalamiin

Dengan senantiasa memanjatkan puji syukur ke hadirat Allah SWT beserta Nabi Muhammad sehingga bisa terselsaikannya skripsi ini.

Kepada orang tuaku (Bapak Slamet Samadi dan Ibu Lilik sutami) terima kasih atas semuanya, untuk ke tiga saudaraku (Fendi, Farra dan Evi) terima kasih atas suportnya. Kepada sich LDR (Enji) makasih atas kebersamaannya.

Dan tak lupa buat Om (Samiaji) dan Tante Kristine terima kasih atas atas bantuannya selam menyelesaikan program S1...

Buat temen-temen the gankgonk (Katrok, Ibor, Kunam, Hutam, Domas, Edon, Jumik dan Phitud) makasih atas kebersamaan kita yang sudah 8 tahun. Buat Keyla makasih ya motivasinya. Buat Suep dan mijan terima kasih atas kebersamaanya untuk kelomok binahong (Andrik, dey, pely, eek, ujk, silpi dan termasuk putri) trima kasih atas kerjasamanya sehingga penelitian ini kelar. Dan buat temen-temen kimia angkatan 2010 terima kasih atas kebersamaan kita selama 4 tahun.

Motto

“ Karena sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan” (Qs. Al-Insiro: 5)

*We were not born to follow so we are not always
follow the rule*

SURAT PERNYATAAN
ORISINILITAS PENELITIAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini.

Nama : Ferry Pradana
NIM : 10630002
Fakultas/Jurusan : Sains dan Teknologi/Kimia
Judul Penelitian : Identifikasi Flavonoid dengan Pereaksi Geser dan Pengaruh Ekstrak etanol 70 % Umbi Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) Terhadap Kadar Glukosa Darah Tikus Induksi aloksan

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambil alihan data, tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai hasil tulisan atau pikiran saya sendiri, kecuali dengan mencantumkan sumber cuplikan pada daftar pustaka. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini adalah hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perubahan tersebut.

Malang, 8 September 2014
Yang Membuat Pernyataan

Ferry Pradana
NIM. 10630002

KATA PENGANTAR

Assalamua'alaikum Wr. Wb

Rasa syukur kepada Allah SWT yang tak dapat terwakili dengan hal apapun, karena rahmatNya yang begitu besar dan tak ternilai harganya. Segala puji syukur kehadiran Allah yang telah memberikan rahmat dan hidayahnya, sehingga Skripsi Penelitian dengan judul “ Identifikasi Flavonoid Dengan Pereaksi Geser Dan Pengaruh Ekstrak etanol 70 % Umbi Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) Terhadap Kadar Glukosa Darah tikus Induksi Aloksan” dapat terselesaikan.

Ucapan terima kasih penulis sampaikan kepada semua pihak yang telah memberikan kontribusi baik dukungan moral maupun spiritual demi suksesnya penyusunan proposal penelitian hingga dapat terselesaikan penyusunan skripsi ini.

Skripsi ini merupakan salah satu syarat menyelesaikan program S1 (Strata-1) di Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang. Seiring terselesaikannya penyusunan skripsi ini, dengan penuh kesungguhan dan kerendahan hati, penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Ibu Elok Kamilah Hayati, M. Si, selaku Pembimbing
2. Ibu Hafidatul Hasanah, M. Si, selaku Konsultan
3. Bapak A. Ghana'im Fasya, selaku Pembimbing agama
4. Bapak Tri Kustuno Adi, selaku Penguji Utama
5. Ibu akyunul Jannah, MP, selaku Ketua Penguji

Yang telah memberikan bimbingan, pengarahan dan nasehat serta motivasinya yang begitu besar kepada penulis dalam menyelesaikan skripsi ini. Penulisan ini tidak luput dari bantuan semua pihak, baik secara langsung maupun tidak langsung,

Oleh karena itu, penulis mengucapkan terima kasih yang sedalam-dalamnya kepada:

1. Bapak Prof. Dr. H. Muldja Raharjo, M.Sc selaku Rektor UIN Maliki Malang.
2. Ibu Dr. Hj. Bayyinatul M., drh., M. Si selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi, UIN Maliki Malang.
3. Ibu Elok Kamilah Hayati, M. Si selaku Ketua Jurusan Kimia, UIN Maliki Malang yang telah memberikan arahan dan nasehat kepada penulis.
4. Para Dosen Pengajar di Jurusan Kimia yang telah memberikan bimbingan maupun ilmu-ilmunya kepada penulis selama berada di UIN Maliki Malang.

Penulis menyadari adanya kekurangan atau keterbatasan dalam skripsi ini. Oleh karena itu, dengan segala kerendahan hati penulis mengharapkan kritik dan saran yang bersifat membangun dari semua pihak demi penyempurnaan skripsi ini.

Malang, 8 September 2014

Penulis

DAFTAR ISI

Halaman Judul	i
Lembar Persetujuan	ii
Lembar Pengesahan	iii
Lembar Persembahan	iv
Motto	v
Lembar ORisinilitas	vi
Kata Pengantar	vii
Daftar Isi	ix
Daftar Tabel	xii
Daftar Gambar	xiii
Daftar Lampiran	xiii
Abstrak	xvi
BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	01
1.2 Rumusan Masalah	04
1.3 Tujuan Penelitian	05
1.4 Batasan Masalah	05
1.5 Manfaat Penelitian	06
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Tanaman Binahong <i>Anredera codifolia</i> (Ten.) Steenis	07
2.1.1 Diskripsi Tanaman Binahong	07
2.1.2 Klasifikasi Tanaman Binahong	09
2.1.3 Kandungan dan Kegunaan Tanaman Binahong	09
2.2 Ekstraksi Umbi Binahong Dengan Metode Maserasi	11
2.3 Diabetes Millitus	13
2.3.1 Klasifikasi Diabetes Mellitus	13
2.3.2 Faktor Penyebab Diabetes Mellitus	14
2.3.3 Mekanisme Terjadinya Diabetes Mellitus	15
2.4 Pengobatan Diabetes Mellitus Tipe I	17
2.4.1 Terapi Insulin	17
2.4.2 Pengobatan Dengan Bahan Alam	17
2.5 Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>)	18
2.6 Aloksan	19
2.7 Glucometer	21
2.8 Flavonoid	22
2.8.1 Antosianin	25
2.8.2 Flavon dan Flavonol	25
2.8.3 Katekin	26
2.8.4 Tanin	27
2.8.5 Flavonoid Minor	27
2.9 Teknik Pemisahan Senyawa Flavonoid	28
2.9.1 Kromatografi Lapis Tipis (KLT)	28
2.9.2 Spektrovotometri UV-Vis	31
2.10 Pemanfaatan Tanaman sebagai Obat dalam Prespektif Islam	38
BAB III METODOLOGI	
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian	40

3.2	Alat dan Bahan Penelitian	40
3.2.1	Alat	40
3.2.2	Bahan	43
3.3	Rancangan Penelitian	43
3.4	Tahapan Penelitian	43
3.5	Prosedur Penelitian	44
3.5.1	Preparasi Sampel	44
3.5.2	Analisis Kadar Air	44
3.5.3	Ekstraksi Umbi Binahong	45
3.5.4	Uji Antidiabetes	46
3.5.4.1	Preparasi Hewan Coba	46
3.5.4.2	Pembuatan Larutan aloksan	47
3.5.4.3	Pembuatan Tikus Diabetes (DM) dan Kontrol	47
3.5.4.4	Pengukuran Kadar Glukosa Darah	48
3.5.4.5	Pembuatan Tikus Kontrol Obat dan Negatif	48
3.5.4.6	Terapi Tikus Diabetes dengan Ekstrak Umbi Binahong ..	49
3.5.5	Uji Fitokimia dengan Reagen	49
3.5.5.1	Uji Alkaloid	50
3.5.5.2	Uji Flavonoid	50
3.5.5.3	Uji Tanin	50
3.5.5.4	Uji Saponin	50
3.5.5.5	Uji Terpenoid	51
3.5.6	Identifikasi Flavonoid	51
3.5.7.1	Ekstraksi Flavonoid	51
3.5.7.2	Pemisahan Flavonoid dengan KLTA	52
3.5.7.2	Pemisahan Flavonoid dengan KLTP	52
3.5.7.1	Identifikaasi Flavonoid	53
3.6	Analisis Data	54
BAB IV PEMBAHASAN		
4.1	Preparasi Sampel	56
4.2	Analisis Kadar Air	56
4.3	Ekstraksi Umbi Binahong	58
4.4	Uji Antidiabetes	63
4.5	Identifikasi Golongan Senyawa Aktif dengan Reagen	77
4.5.1	Flavonoid	79
4.5.2	Alkaloid	80
4.5.3	Tanin	82
4.5.4	Saponin	84
4.5.5	Terpenoid	85
4.6	Uji Fitokimia dengan KLT	86
4.6.1	Pemisahan Flavonoid dengan KLTA	87
4.6.2	Pemisahan Flavonoid dengan KLTP	92
4.7	Identifikasi Senyawa Flavonoid	94
4.7.1	Identifikas Struktur Senyawa Flavonoid	96
4.7.1.1	Identifikas Struktur Senyawa Flavonoid Isolat 2	96
4.7.1.2	Identifikas Struktur Senyawa Flavonoid Isolat 4	98
4.7.1.3	Identifikas Struktur Senyawa Flavonoid Isolat 5	99
4.8	Pemanfaatan Umbi Binahong dalam Prespektif Agama Islam	102

BAB V PENUTUP	
5.1 Kesimpulan	105
5.2 Saran	105
DAFTAR PUSTAKA	106
Lampiran – lampiran	112



DAFTAR TABEL

Tabel 2.1	Sifat berbagai golongan flavonoid	24
Tabel 2.2	Petunjuk penafsiran senyawa flavonoid	29
Tabel 2.3	Rentang serapan spektrum UV-Vis flavonoid	37
Tabel 4.1	Hasil maserasi ekstrak etanol-air (70:30) umbi binahong	60
Tabel 4.2	Hasil hodrolisis ekstrak umbi binahong	61
Tabel 4.3	Rata-rata kadar glukosa darah	68
Tabel 4.4	Data penurunan kadar glukosa darah hari ke-14	75
Tabel 4.5	Data hasil identifikasi senyawa aktif dengan uji reagen	77
Tabel 4.6	Data penampakan noda dari fasa organik	86
Tabel 4.7	Nilai Rf dan warna noda KLTA BAA diuapi NH ₃	88
Tabel 4.8	Nilai Rf dan warna noda KLTA BAA setelah diuapi NH ₃	89
Tabel.4.9	Data Rf hasil KLT preparatif UV 254	91
Tabel.4.10	Data Rf hasil KLT preparatif dan warna noda UV 254	92
Tabel 4.11	Panjang gelombang maksimum noda KLT preparatif	94
Tabel 4.12	Interpretasi perubahan panjang gelombang Isolat 2	96
Tabel 4.13	Interpretasi perubahan panjang gelombang Isolat 4	98
Tabel 4.14	Interpretasi perubahan panjang gelombang Isolat 5	100

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Daun, batang, akar dan umbi Binahong	08
Gambar 2.2	Struktur 3,5,3',4'- Tetrahidroksiflavonol	11
Gambar 2.3	Sel-sel pankreas	16
Gambar 2.4	<i>Rattus norvegicus</i>	19
Gambar 2.5	Struktur aloksan	20
Gambar 2.6	Glucometer	22
Gambar 2.7	Struktur umum flavonoid	23
Gambar 2.8	Struktur antosianidin	25
Gambar 2.9	Struktur falvon dan flavonol utama	26
Gambar 2.10	Struktur katekin	26
Gambar 2.11	Struktur tanin	27
Gambar 2.12	Struktur flavonoid minor	28
Gambar 2.13	Reaksi NaOH dengan senyawa flavonoid	33
Gambar 2.14	Contoh manfaat pereaksi geser	34
Gambar 2.15	Reaksi pembentukan kompleks flavonoid dengan AlCl ₃ dan HCl	34
Gambar 2.16	Contoh manfaat pereaksi geser AlCl ₃ dan AlCl ₃ /HCl	35
Gambar 2.17	Reaksi NaOAc dengan senyawa flavonoid	35
Gambar 2.18	Contoh manfaat pereaksi geser NaOAc	36
Gambar 2.19	Reaksi pembentukan kompleks asam borat dengan flavonoid	36
Gambar 2.20	Spektrum serapan UV-Vis jenis flavonoid	37
Gambar 4.1	Reaksi dugaan hidrolisis flavonoid glikosida dengan HCl	62
Gambar 4.2	Grafik derajat kadar glukosa darah	70
Gambar 4.3	Reaksi penghambat antioksidan primer terhadap radikal lipida ..	73
Gambar 4.4	Reaksi penggarukan radikal bebas oleh flavonoid	74
Gambar 4.5	Reaksi Dugaan Flavonoid dengan serbuk Mg dan HCl pekat	78
Gambar 4.6	Reaksi dugaan antara alkaloid dengan pereaksi dragendorf	79
Gambar 4.7	Reaksi dugaan antara alkaloid dengan pereaksi Mayer	80
Gambar 4.8	Reaksi dugaan antara senyawa tanin dengan FeCl ₃	81
Gambar 4.9	Reaksi dugaan antara senyawa saponin	83
Gambar 4.10	Dugaan reaksi terpenoid	84
Gambar 4.11	Foto plat hasil KLTA sinar UV 254	88
Gambar 4.12	Foto plat hasil KLTA sinar UV 366	89
Gambar 4.13	Struktur dugaan senyawa flavonoid isolat 2	97
Gambar 4.14	Struktur dugaan senyawa flavonoid isolat 4	99
Gambar 4.15	Struktur dugaan senyawa flavonoid isolat 5	101

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1: Diagram Alir Penelitian	114
Lampiran 2: Skema Kerja	115
L.2.1 Preparasi Sampel	115
L.2.2 Analisis Kadar Air	116
L.2.3 Ekstraksi Umbi Binahong	117
L.2.4 Uji Antidiabetes Mellitus	118
L.2.4.1 Preparasi Hewan Coba	118
L.2.4.2 Pembuatan Larutan Aloksan	119
L.2.4.3 Pembuatan Tikus Diabetes Mellitus	119
L.2.4.4 Pembuatan Tikus Kontrol Negatif dan Kontrol 0 (nol)	120
L.2.4.5 Terapi Tikus DM I dengan Ekstrak Umbi Binahong	121
L.2.4.6 Terapi Tikus DM I dengan Glibenklamid	122
L.2.5 Uji Fitokimia dengan Reagen	123
L.2.5.1 Uji Alkaloid	123
L.2.5.2 Uji Flavonoid	124
L.2.5.3 Uji Tanin	124
L.2.5.4 Uji Saponin	125
L.2.5.5 Uji Terpenoid	125
L.2.6 Identifikasi Flavonoid	126
L.2.6.1 Ekstraksi Flavonoid dari Ekstrak Kasar Umbi Binahong	126
L.2.6.2 Pemisahan Senyawa Flavonoid KLTA	127
L.2.6.3 Pemisahan Senyawa Flavonoid KLTP	127
L.2.6.4 Identifikasi dengan Spektrofotometer UV-Viv	128
Lampiran 3: Pembuatan Larutan	129
L.3.1 Pembuatan Reagen Dragendroff	129
L.3.2 Pembuatan Reagen Mayer	129
L.3.3 Pembuatan Metanol 50 %	130
L.3.4 Pembuatan Etanol 70 %	130
L.3.5 Pembuatan FeCl ₃ 1 %	131
L.3.6 Pembuatan HCl 1 N	132
L.3.7 Pembuatan HCl 2 %	133
L.3.8 Pembuatan HCl 15 %	133
L.3.9 Pembuatan NaCl 0,9 %	133
L.3.10 Pembuatan Pereaksi Geser	134
L.3.10.1 Pembuatan Larutan NaOH 2 M	134
L.3.10.2 Pembuatan AlCl ₃ 5 %	134
Lampiran 4: Perhitungan dan Penentuan Dosis	135
L.4.1 Dosis Ekstrak Etanol Umbi Binahong	135
L.4.2 Perhitungan Dosis dan Jumlah Ekstrak Larutan Uji	136
L.4.3 Perhitungan Glibenklamid	137
L.4.4 Perhitungan Penggunaan Aloksan	138
Lampiran 5: Perhitungan Kadar Air.....	139
Lampiran 6: Perhitungan Rendemen	142
Lampiran 7: Uji analisis variasi (ANAVA) satu arah	143
Lampiran 8: Uji Tuckey Terhadap Kadar Glukosa Darah	154

Lampiran 9: Uji Duncan Terhadap Kadar Glukosa Darah	166
Lampiran 10: Spektra Pergeseran Panjang Gelombang dengan UV-Vis	172
L.10.1 Isolat 2	172
L.10.2 Isolat 4	174
L.10.3 Isolat 5	176
Lampiran 11: Hasil Pengujian firokimia dengan Reagen	178
Lampiran 12: Perhitungan Rf Hasil KLT Masing – Masing Eluen	179
Lampiran 13: Sertifikat Keterangan Kelayakan Etik	181
Lampiran 14: Jadwal Kegiatan	182
Lampiran 15: Dokumentasi	183
Lampiran 16: Perhitungan Standar Deviasi Rata-Rata Kadar Glukosa Darah ...	191



ABSTRAK

Pradana, F. 2014. Identifikasi Flavonoid Dengan Pereaksi Geser Dan Pengaruh Ekstrak Etanol 70 % Umbi Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) Terhadap Kadar Glukosa Darah Tikus Induksi Aloksan. Pembimbing Utama: Elok Kamilah Hayati, M.Si. Pembimbing Agama: A. Ghanaim Fasya, M.Si.

Kata Kunci : Umbi Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis), Uji antidiabetes, Identifikasi flavonoid dengan pereaksi geser.

Tanaman binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) adalah tanaman obat potensial yang dapat mengatasi berbagai jenis penyakit. Al Quran surat asy Syu'araa ayat 80 menunjukkan bahwa sesungguhnya kesehatan merupakan suatu nikmat besar yang Allah SWT berikan kepada manusia. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui jenis flavonoid dan pengaruh terapi ekstrak etanol 70 % umbi binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) terhadap kadar gula darah tikus diabetes mellitus yang telah diinduksi aloksan.

Penelitian dilakukan dengan ekstraksi sampel menggunakan pelarut etanol 70 %. Ekstrak pekat yang diperoleh dari hasil ekstraksi selanjutnya digunakan untuk uji antidiabetes terhadap tikus *Rattus Norvegicus* yang telah diinduksi dengan aloksan. Kemudian diterapi dengan tiga variasi dosis ekstrak 25 mg/Kg BB, 50 mg/Kg BB dan 75 mg/Kg BB. Data dianalisis dengan uji ANOVA untuk mengetahui perbedaan masing-masing kelompok dan uji Duncan untuk mengetahui dosis yang paling optimum dalam menurunkan kadar glukosa darah. Uji fitokimia dilakukan dengan uji reagen, dugaan adanya flavonoid diperkuat dengan KLTA yang kemudian eluen terbaik dari KLTA digunakan untuk KLTP. Hasil dari KLTP diuji dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis dan diperkuat dengan pereaksi geser.

Hasil dari penelitian ini menunjukkan bahwa masing-masing dosis ekstrak etanol 70 % umbi binahong mampu menurunkan kadar glukosa darah. Berdasarkan hasil uji ANOVA didapatkan bahwa masing-masing kelompok tidak memiliki penurunan kadar glukosa yang sama dan dari uji Duncan, didapatkan bahwa dosis 25 mg/Kg BB merupakan dosis yang paling optimum dengan rata-rata penurunan kadar glukosanya adalah 307,25 mg/dL. Hasil uji fitokimia menunjukkan adanya flavonoid, sedangkan hasil KLTA dengan eluen n-butanol-asam asetat-air (4:1:5) diperoleh 6 noda. Dari data spektrum diduga senyawa flavonoid yang mungkin dari hasil KLTP adalah isolat 2, 4 dan 5. Diduga jenis flavonoid yang terdapat pada umbi binahong adalah senyawa flavonol dan isoflavon.

ABSTRACT

Pradana, F. 2014. Identification of Flavonoid in 70 % Ethanol Extract of Binahong Tuber (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) using Shift Reagent and Its Effect to Glucose Blood Levels of Alloxan-induced Rat. Supervisor: elok Kamilah Hayati, M. Si. Supervisor of Religion: A. Ghanaim Fasya, M. Si.

Key Word : Binahong Tuber (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis), Antidiabetic Test, Identification Flavonoid using shift reagent.

Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) is a potential medical plants for the treatment of various diseases. Al Quran surah Syu'araa ayah 80 suggests that health is a big grace from Allah for man. The aims of this research are to know the type of flavonoid in 70% ethanol extract of binahong tuber and its effect to glucose blood levels of Alloxan-induced Rat.

Binahong was extracted using 70 % ethanol as solvent. The obtained concentrated extract furthermore is used for antidiabetic assay to *Rattus Norvegicus* that has been induced by alloxan. The rats than were treated with three doses of binahong tuber ethanol extract: 25, 50 and 75 mg/Kg BW. Data was analyzed by ANOVA to know the different effect of the treatment and than analyzed by Duncan to know the optimum doses to decrease glucose blood levels. Phytochemical assay was performed, the hypothesis about flavonoid content is proved by Analytic Thin Layer Chromatography (ATLC). The best eluen from ATLC was used for Preparative Thin Layer Chromatography (PTLC). The result of PLTV was analyzed using UV Vis Spectrophotometer and shift reagents.

The results showed that each doses of 70 % ethanol extract binahong tuber is able to decrease glucose blood levels. Based on the result of ANOVA analysis, each doses does not give same effect to decrease glucose blood levels. Duncan analysis shows that doses 25 mg/kg BW is optimum dose with average of decrease glucose blood levels is 307,25 mg/dL. The result of phytochemical assay show that 70 % ethanol extract binahong tuber contain flavonoid. ATLC with eluen n-butanol-asetad acid-aquades (4:1:5) result 6 spotted. Based on spectra data, expected flavonoid compound from PTLC was isolat 2, 4 and 5. The expected flavonoid compound are flavonol and isoflavon.

مستخلص البحث

فردانا ، ف ، 2014 ، التحديد الفلافونويدات مع شريحة والنفوذ الكاشف 70٪ استخراج الإيثانول من درنة بيناهونج (أنريديرى كورديفوليا (تين) ستينيس) ضد الجرذ الجلوكوز في الدم تحريض ألوكسان . المشرفة الرئيسية : إيلوك كاميلة هياتي الماجستير ، المشرف الدينية : أحمد غنام فاشا الماجستير

كلمات البحث: لمبات بيناهونج (أنريديرى كورديفوليا (تين) ستينيس) ، اختبار مضاد السكري، تحديد فلافونيدات مع انزلاق كاشف .

النباتات بيناهونج (أنريديرى كورديفوليا (تين) ستينيس) هو النباتات الطبية التي يمكن أن يحتل التغلب أنواع كثيرة من الأمراض . بالامر السهل إلكتروني القرآن الكريم في السورة الشعراً الآية 80 تشير إلى أن الصحة هي في الواقع خدمة كبيرة أن الله أعطى للبشر . هدفت هذه الدراسة إلى تحديد تأثير علاجي من الفلافونويد و 70٪ من الإيثانول المستخلص من الدرنات بيناهونج (أنريديرى كورديفوليا (تين) ستينيس) على مستويات السكر في الدم لمرضى السكري من الفئران التي كانت قد يسببها السكري الناجم عن الألوكسان .

وقد أجريت الدراسة مع استخراج العينة باستخدام الإيثانول 70٪ . يستخدم مستخلص المركزة تم الحصول عليها من استخراج مزيد من الفئران لاختبار مضاد السكري الجرذ النرويجي الذي تم الناجمة عن ألوكسان . ثم تعامل مع ثلاث جرعات من استخراج الاختلاف من 25 ملغ / كغ من وزن الجسم، و 50 ملغ / كغ من وزن الجسم و 75 ملغ / كغ من وزن الجسم . وقد تم تحليل البيانات بواسطة ANOVA لتحديد الاختلافات في كل مجموعة واختبار دنكان لتحديد الجرعة المثلى في خفض مستويات السكر في الدم . إجراء الاختبار الكيميائي النباتي مع الكواشف اختبار، وجود المزعوم للأكسدة التي يتم بعد ذلك عززت KLTA أفضل من KLTA شاطئ تستخدم KLTP . اختبار نتائج KLTP باستخدام القياس الطيفي للأشعة فوق البنفسجية فيس ومعرزة كاشف القص .

النتائج هذه الدراسة أظهرت أن كل جرعة من 70٪ من الإيثانول المستخلص من الدرنات بيناهونج قادرة على خفض مستويات السكر في الدم . بناء على نتائج اختبار ANOVA أظهرت أن كل مجموعة لها نفس الانخفاض في مستويات الجلوكوز واختبار دنكان، تبين أن جرعة من 25 ملغ / كغ من وزن الجسم هي الجرعة الأكثر المثلى بمتوسط انخفاض في مستويات السكر كان 307.25 ملغ / ديسيلتر . نتائج الاختبار الكيميائي النباتي تشير إلى وجود مركبات الفلافونويد، في حين أن نتائج KLTA مع حمض المياه شاطئ ن بيوتانول - الخليك (4: 1: 5) تم الحصول على 6 البقع . من البيانات الطيفية من مركبات الفلافونويد التي يمكن أن يشتبه في النتائج KLTP هم العزلات 2 و 4 و 5 مشتبه بهم من الفلافونويد الواردة في لمبة هو مركبات الفلافونول بيناهونج المجمع والايسوفلافون .

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Diabetes mellitus merupakan suatu penyakit metabolisme yang mempunyai karakteristik *hyperglycemia* akibat dari cacat pada sekresi insulin, kerja insulin atau keduanya. *Hyperglycemia* pada diabetes mellitus yang berkepanjangan akan mengakibatkan disfungsi dan kegagalan kerja dari berbagai macam organ terutama mata, ginjal, saraf dan jaringan darah. Diabetes mellitus merupakan kondisi di mana tubuh tidak dapat dengan tepat menggunakan energi dari makanan yang dimakan. Diabetes mellitus disebabkan karena hormon insulin yang tidak mencukupi atau tidak efektif sehingga tidak dapat bekerja secara normal. Insulin mempunyai peranan penting yaitu mengatur kadar glukosa di dalam darah 60-120 mg/dL waktu puasa dan <140 mg/dL pada 2 jam setelah makan (Studiawan dan Muldja, 2005).

Berdasarkan data *World Health Organisation* (WHO) pada tahun 2013, Indonesia berada pada urutan keempat jumlah penderita diabetes mellitus setelah India, China dan Amerika. Jumlah penderita diabetes mellitus di dunia saat ini telah mencapai 239 juta jiwa dan telah diprediksi pada tahun 2020, jumlah penderita diabetes mellitus akan semakin meningkat mencapai 306 juta jiwa.

Ada dua macam penyakit diabetes mellitus yaitu diabetes mellitus tipe I dan diabetes mellitus tipe II. Diabetes mellitus tipe I adalah salah satu penyakit

autoimun yang disebabkan kerusakan sel β Langerhans pankreas akibat inflasi sel *mononuclear*. Sementara diabetes mellitus tipe II adalah kelompok diabetes mellitus akibat kurangnya jaringan sasaran (otot, jaringan adipose dan hepar) berespon terhadap insulin. (Tjekyan, 2007).

Dalam perkembangan ilmu seperti saat ini, banyak tumbuhan yang terbukti secara alamiah bisa mengobati berbagai penyakit. Dalam kisah nabi Yunus AS, juga dikisahkan bahwasannya Nabi Yunus AS pada waktu dalam keadaan sakit (setelah ditelan ikan) diperintah oleh Allah SWT untuk memulihkan kondisi tubuhnya dengan memakan tumbuhan dari sejenis labu. Kisah ini terdapat dalam surat ash Shaaffaat ayat 145-146:

﴿فَنَبَذْنَاهُ بِالْعَرَاءِ وَهُوَ سَقِيمٌ ﴿١٤٥﴾ وَأَنْبَتْنَا عَلَيْهِ شَجَرَةً مِّنْ يَقْطِينٍ ﴿١٤٦﴾﴾

Artinya: *Kemudian kami lemparkan dia ke daerah yang tandus, sedang ia dalam keadan sakit. Dan kami tumbuhkan untuk dia sebatang pohon dari jenis labu*". (QS. ash Shaaffaat: 145-146).

Dari ayat tersebut, manusia bisa mengambil suatu pelajaran bahwasanya di dalam suatu tumbuhan selain mengandung sifat estetika juga terdapat manfaat tertentu. Selain itu, antara tanaman yang satu dengan tanaman yang lainnya tidaklah mempunyai manfaat yang sama. Berbagai macam tanaman yang dapat digunakan sebagai obat antidiabetes diantaranya temugiring, alga hitam, simbukan serta binahong dan masih banyak lagi (Jauhari, 1984).

Tanaman binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) merupakan tumbuhan menjalar dengan panjang bisa mencapai lima meter. Batangnya lunak, silindris, saling membelit, berwarna merah dan permukaan halus (Manoi, 2009). Kandungan kimia (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) pada penelitian Rachmawati *et al.*, (2012) sebelumnya telah dilaporkan bahwa terdapat kandungan metabolit sekunder jenis flavonoid, alkaloid, tannin, triterpenoid, saponin dan steroid. Dengan menggunakan ekstrak n-heksana, ekstrak etanol dan ekstrak etil asetat daun binahong. Bagian tanaman binahong yang bermanfaat sebagai obat pada umumnya adalah umbi, akar dan daun. Penelitian Sukandar *et al.*, (2011) pemberian ekstrak metanol daun binahong dapat menurunkan kadar glukosa pada tikus yang telah diinduksi aloksan. Penelitian Saleh *et al.*, (2012) pemberian ekstrak etanol umbi binahong mampu menurunkan kadar glukosa darah mencit yang diberi glukosa 50 % dosis 4 g/Kg BB.

Saat ini belum diketahui apakah ekstrak etanol umbi binahong dapat menjadi alternatif terapi untuk diabetes mellitus tipe I. Sebagaimana pada penelitian Saleh *et al.*, (2012) sebelumnya, menunjukkan persentase penurunan kadar glukosa darah pada dosis 25 mg/Kg BB memperlihatkan efek hipoglikemik yang efektif yaitu 33,05 % dibandingkan pada ekstrak etanol umbi binahong dosis 75 mg/Kg BB sebesar 38,917 % dan dosis 50 mg/Kg BB sebesar 28,42 % terhadap tikus yang telah diinduksi glukosa 50 % dosis 4 g/Kg BB. Dengan demikian, pada penelitian ini akan dilakukan penelitian pemberian ekstrak etanol

umbi binahong sebagai antidiabetes mellitus tipe I dengan menggunakan tiga variasi dosis yaitu 25 mg/Kg BB, 50 mg/Kg BB dan 75 mg/Kg BB.

Berdasarkan penelitian Saleh *et al.*, (2012) ekstrak etanol umbi binahong dapat menurunkan kadar glukosa darah di karenakan terdapatnya senyawa aktif salah satunya adalah flavonoid yang diduga mengembalikan sensitivitas reseptor insulin pada sel. Senyawa flavonoid yang terdapat dalam umbi binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) belum diketahui jenis golongannya secara spesifik. Oleh karena itu perlu dilakukan pengkajian dan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui jenis senyawa flavonoid dengan melakukan isolasi dan identifikasi pada umbi binahong.

Isolasi senyawa flavonoid dari umbi binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 70 %. Pemisahan dan pemurnian komponen-komponen senyawa flavonoid dilakukan dengan kromatografi lapis tipis kualitatif dan preparatif. Identifikasi senyawa-senyawa flavonoid dilakukan dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis dan diperkuat dengan pereaksi geser.

Sehingga dengan demikian dapat diketahui efektifitas ekstrak etanol 70 % dari umbi binahong sebagai antidiabetes mellitus tipe I yaitu dengan memperoleh nilai kadar glukosa darah dan jenis senyawa flavonoid yang terdapat pada ekstrak etanol 70 % umbi binahong.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas maka dapat diambil rumusan masalah sebagai berikut :

1. Bagaimanakah pengaruh terapi ekstrak etanol 70 % umbi binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) terhadap kadar gula darah tikus diabetes mellitus yang telah diinduksi aloksan?
2. Jenis flavonoid apakah yang terdapat pada ekstrak etanol 70 % umbi binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis)?

1.3 Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah di atas, maka penelitian ini bertujuan untuk:

1. Mengetahui pengaruh terapi ekstrak etanol 70 % umbi binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) terhadap kadar gula darah tikus diabetes mellitus yang telah diinduksi aloksan.
2. Mengetahui jenis senyawa flavonoid yang terkandung di dalam ekstrak etanol 70 % umbi binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis).

1.4 Batasan Masalah

1. Umbi binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) yang digunakan dalam penelitian ini adalah umbi binahong tua yang telah dikeringkan dan berasal dari Kabupaten Temanggung Jawa Tengah.
2. Tikus yang digunakan pada penelitian ini, merupakan jenis tikus jantan *Rattus Norvegicus* dengan *code ettick* 221 KEP UB.
3. Induksi diabetes mellitus terhadap hewan uji menggunakan aloksan.

4. Pelarut yang digunakan pada penelitian ini adalah etanol 70 %.
5. Parameter yang dilakukan pada penelitian ini adalah identifikasi flavonoid ekstrak etanol 70 % dan kadar glukosa darah

1.5 Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan bermanfaat untuk:

1. Memperkaya ilmu pengetahuan yang berkaitan dengan diabetes mellitus.
2. Memberikan informasi bahwa ekstrak etanol 70 % umbi binahong dapat digunakan sebagai alternatif menurunkan kadar glukosa darah.
3. Memberikan motivasi kepada semua orang untuk menemukan bahan alam yang mampu digunakan untuk penyakit diabetes mellitus.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis)

2.1.1 Diskripsi Tanaman Binahong

Tanaman binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) adalah tanaman obat potensial yang dapat mengatasi berbagai jenis penyakit. Tanaman ini berasal dari dataran Cina dengan nama asalnya adalah *Dheng shan chi*, di Inggris disebut *madeira vine*. Sinonim *Boussingaultia gracillis* Miers. *Baussingaultia cordifolia* *Boussingaultia basselloides*. Di Indonesia tanaman ini dikenal sebagai gondola yang sering digunakan sebagai gapura yang melingkar di atas jalan taman. Tanaman ini perlu dikembangkan dan diteliti lebih lanjut, terutama untuk mengungkapkan khasiat dari bahan aktif yang dikandungnya. Berbagai pengalaman yang ditemui di masyarakat, binahong dapat dimanfaatkan untuk membantu proses penyembuhan penyakit berat (Manoi, 2009)

Tanaman binahong berupa tumbuhan menjalar, berumur panjang, bisa mencapai +/- 5 m, akar berbentuk rimpang, berdaging lunak, silindris, saling membelit, berwarna merah, bagian dalam solid, permukaan halus, kadang membentuk semacam umbi yang melekat di ketiak daun dengan bentuk tak beraturan dan bertekstur kasar. Daun tunggal bertangkai sangat pendek, tersusun berseling, berwarna hijau, bentuk jantung (condata), panjang 5-10 cm, lebar 3-7 cm, helaian daun tipis lemas, ujung runcing, pangkal berlekuk (emerginatus), tepi rata, permukaan licin, bisa dimakan. (Gambar 2.1). (Mus, 2008).



Gambar 2.1 Daun, Batang, Akar dan umbi Bianahong (*Anredara Cordifolia* (Ten.) Steenis) (sumber: Anonim¹, 2013)

Keterangan: (a) Daun Bianahong
(b) Bunga Bianahong
(c) Umbi Bianahong

Allah telah berfirman dalam surat asy Syu'araa ayat 7 sebagai berikut:

أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَمْ أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ ﴿٧﴾

Artinya: *Dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyaknya kami tumbuhkan di bumi itu berbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik? (QS. asy Syu'ara:7).*

Ayat tersebut telah menjelaskan bahwa fenomena tumbuhan yang beraneka ragam secara morfologi menampilkan gambaran yang unik tersendiri. Morfologi tumbuhan tidak hanya menguraikan bentuk dan susunan tumbuh-

tumbuhan saja, tetapi juga menentukan fungsi masing-masing bagian dalam kehidupan tumbuhan dan untuk mengetahui darimana asal bentuk dan susunan yang sedemikian itu. Maha besar Allah SWT yang telah menciptakan keanekaragaman dunia tumbuhan dengan berbagai perbedaan dan persamaannya. Ada tumbuhan yang sama sekali berbeda dengan tumbuhan lain, ada yang mirip tetapi berbeda, ada yang sedikit perbedaan dan banyak perbedaan (Rossidy, 2008).

2.1.2 Klasifikasi Tanaman Binahong

Klasifikasi tanaman binahong (*Anredera Cordifolia* (Ten.) Steenis).

Menurut situs (Anonim², 2013) :

Kingdom	: Plantae (Tumbuhan)
Subkingdom	: Tracheobionta (Tumbuhan berpembuluh)
Super Divisi	: Spermatophyta (Menghasil biji)
Divisi	: Magnoliophyta (Tumbuhan berbunga)
Kelas	: Magnoliopsida (berkeping dua/dikotil)
Sub Kelas	: Hamameledae
Ordo	: Caryophyllales
Famili	: Basellaceae
Genus	: Anredera
Spesies	: <i>Anredera cordifolia</i> (Ten.) Steents

2.1.3 Kandungan dan Kegunaan Tanaman Binahong

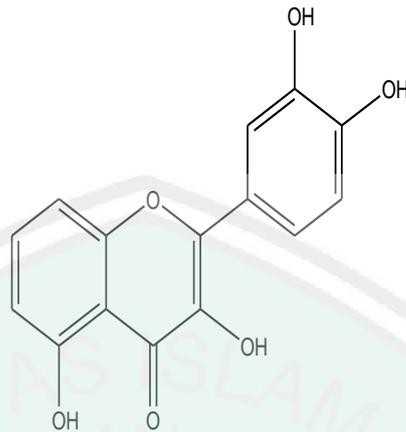
Manfaat tanaman binahong sangat besar dalam dunia pengobatan, secara empiris binahong dapat menyembuhkan berbagai macam penyakit. Dalam pengobatan, bagian tanaman yang digunakan dapat berasal dari akar, batang, daun dan bunga maupun umbi yang menempel pada ketiak daun. Tanaman ini dikenal dengan sebutan *Madeira Vine* dipercaya memiliki kandungan antioksidan tinggi dan antivirus. Tanaman ini masih diteliti meski dalam lingkup terbatas. Percobaan pada tikus yang disuntikan dengan ekstrak dari binahong dapat meningkatkan

daya tahan tubuh, peningkatan agresivitas tikus dan tidak mudah sakit (Manoi, 2009).

Rochani (2009), melakukan ekstraksi dengan cara maserasi daun binahong dengan menggunakan pelarut petroleum eter, etil asetat dan etanol, setelah dilakukan uji fitokimia ditentukan dengan kandungan alkaloid, saponin dan flavonoid. Kemampuan binahong untuk menyembuhkan berbagai macam penyakit ini berkaitan erat dengan senyawa aktif yang terkandung di dalamnya. Flavonoid dapat berperan langsung sebagai antibakteri dengan mengganggu fungsi dari mikroorganisme bakteri (Manoi, 2009).

Menurut Tshikalange *et al.*, (2005) ekstrak air akar binahong dengan dosis 50 mg/ml memiliki daya hambat terhadap bakteri Gram-positif (*B.pumilus*, *B.subtilis* dan *S.aureus*) serta bakteri Gram-negatif (*Enterobacter cloacae*, *E.coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Serratia marcescens* dan *Enterobacter aerogenes*). Penelitian (Sukandar *et al.*, 2011) pemberian ekstrak metanol daun binahong dapat menurunkan kadar glukosa pada tikus yang telah diinduksi aloksan.

Flavonoid adalah salah senyawa kelompok fenol terbesar di alam. Flavonoid yang ditemukan menunjukkan aktivitas biokimia misalnya antioksidan, antivirus, antibakteri dan antikanker. Ekstrak etanol dilakukan untuk mendapatkan flavonoid yang terdapat pada umbi binahong dengan menggunakan metode maserasi. Senyawa flavonoid yang berhasil di isolasi pada daun binahong yaitu 3,5,3',4'- Tetrahidroksiflavonol (Rachmawati *et al.*, 2012).



Gambar 2.2 Struktur 3,5,3',4' - Tetrahidroksiflavonol (Sumber: Rachmawati *et al.*, 2012)

Pemberian ekstrak etanol umbi binahong mampu menurunkan kadar glukosa darah mencit yang diberi glukosa 50 % dosis 4 g/Kg BB, menunjukkan persentase penurunan kadar glukosa darah pada dosis 25 mg/Kg BB memperlihatkan efek hipoglikemik yang efektif yaitu 33,05 % dibandingkan pada ekstrak etanol dosis 75 mg/Kg BB sebesar 38,917 % dan dosis 50 mg/Kg BB sebesar 28,42 % terhadap tikus yang telah diinduksi glukosa 50 % dosis 4 g/Kg BB (Saleh *et al.*, 2012).

2.2. Ekstraksi Umbi Binahong dengan Metode Maserasi

Ekstraksi merupakan penarikan senyawa aktif yang diinginkan dari bahan mentah obat dengan menggunakan pelarut yang dipilih dimana zat yang akan diinginkan larut (Ansel, 2005). Faktor-faktor yang menentukan hasil ekstraksi adalah jangka waktu sampel kontak dengan cairan pengestraksi (waktu ekstraksi), perbandingan antara jumlah sampel terhadap jumlah cairan pengestraksi (jumlah bahan pengestraksi), ukuran bahan dan suhu ekstraksi.

Semakin lama waktu ekstraksi, kesempatan untuk bersentuhan makin besar sehingga hasilnya juga bertambah sampai titik jenuh larutan. Perbandingan jumlah pelarut dengan jumlah bahan berpengaruh terhadap efisiensi ekstraksi, jumlah pelarut yang berlebihan tidak akan mengekstrak lebih banyak, namun dalam jumlah tertentu pelarut dapat bekerja optimal. Ekstraksi akan lebih cepat dilakukan pada suhu tinggi, tetapi hal ini dapat mengakibatkan beberapa komponen mengalami kerusakan. Penggunaan suhu 50 °C menghasilkan ekstrak yang optimum dibandingkan suhu 40 °C dan 60 °C (Voight, 1994).

Salah satu metode ekstraksi bahan alam, yaitu metode maserasi. Merupakan metode perendaman. Penekanan utama pada maserasi adalah tersedianya waktu kontak yang cukup antara pelarut dan jaringan yang diekstraksi (Guenther, 1987). Maserasi merupakan cara yang sederhana, maserasi dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam pelarut. Dinding sel akan terbuka dan pelarut masuk kedalam rongga sel yang mengandung zat-zat aktif sehingga zat aktif akan larut. Karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel, maka larutan yang pekat didesak keluar. Pelarut yang digunakan dapat berupa air, etanol, air-etanol atau pelarut lain dan untuk mendapatkan ekstrak dalam waktu yang relatif cepat dapat dilakukan pengadukan dengan menggunakan *shaker* berkekuatan 120 rpm selama 24 jam (Yustina *et al.*, 2008). Pelarut merupakan salah satu faktor yang menentukan dalam proses ekstraksi, sehingga banyak faktor yang harus diperhatikan dalam pemilihan pelarut (Guenther, 2006). Terdapat dua pertimbangan utama dalam memilih jenis pelarut, yaitu pelarut harus mempunyai daya larut yang tinggi dan pelarut tidak berbahaya

atau tidak beracun. Pelarut yang digunakan dalam ekstraksi harus dapat melarutkan ekstrak yang diinginkan saja, mempunyai kelarutan yang besar, tidak menyebabkan perubahan secara kimia pada komponen ekstrak dan titik didih kedua bahan tidak boleh terlalu dekat (Bernasconi, 1995).

2.3 Diabetes Mellitus

Diabetes mellitus merupakan suatu penyakit metabolisme yang mempunyai karakteristik *hyperglycemia* akibat dari cacat pada sekresi insulin, kerja insulin atau keduanya. *Hyperglycemia* pada diabetes mellitus yang berkepanjangan akan mengakibatkan disfungsi dan kegagalan kerja dari berbagai macam organ terutama mata, ginjal, saraf dan jaringan darah. Diabetes mellitus merupakan kondisi dimana tubuh tidak dapat dengan tepat menggunakan energi dari makanan yang dimakan (Williams dan Willkins, 2010).

2.3.1 Klasifikasi Diabetes Mellitus

Berdasarkan klasifikasi American *Diabetes Association Health Organization* (ADA/WHO), diabetes mellitus diklasifikasikan menjadi dua tipe berdasarkan penyebab dan proses penyakitnya (Wijayakusuma, 2008):

1. Diabetes Mellitus Tipe 1 (*Insulin Depend Diabetes Mellitus*)

Pada tipe 1, sel pankreas yang menghasilkan insulin mengalami kerusakan. Akibatnya, sel-sel β pada pankreas tidak dapat mensekresi insulin atau hanya dalam jumlah kecil. Kerusakan pada sel-sel β disebabkan oleh peradangan pada pankreas (*pankreatitik*) yang dapat disebabkan oleh infeksi virus atau akibat endapan-endapan besi dalam pankreas (hemokromatosis atau hemosiderosis).

Akibat sel-sel β tidak dapat membentuk insulin maka penderita tipe 1 ini selalu bergantung pada insulin (Wijayakusuma, 2008).

Pada diabetes mellitus tipe I, terjadi kerusakan sel-sel β pankreas yang memproduksi insulin. Ini bisa terjadi akibat turunan (*genetic*) maupun reaksi alergi. Sebagai konsekuensi keadaan ini, insulin harus disuplai dari luar tubuh (Tapan, 2005). Kebanyakan penderita diabetes mellitus tipe I sudah terdiagnosa sejak muda. Umumnya pada saat mereka belum mencapai usia 30 tahun. Karenanya diabetes ini sering disebut dengan diabetes yang bermula pada usia muda (*juvenile-onset diabetes*).

2. Diabetes Mellitus Tipe 2 (*non-insulin dependent diabetes*)

Diabetes tipe II (DM 2) adalah kelompok diabetes mellitus akibat kurangnya jaringan sasaran (otot, jaringan adipose dan hepar) berespon terhadap insulin. Penurunan respon jaringan otot, jaringan adipose dan hepar pada insulin ini, selanjutnya dikenal dengan resistensi insulin dengan atau tanpa hiperinsulinemia. Faktor yang menyebabkan terjadinya resistensi insulin atau hiperinsulinemia ini adalah adanya kombinasi antara kelainan genetik, obesitas, inaktivitas, faktor lingkungan dan faktor makanan (Tjekyan, 2007).

2.3.2 Faktor Penyebab Diabetes Mellitus Tipe 1

Meskipun penyebab pasti dari diabetes mellitus tipe 1 ini belum diketahui namun ada beberapa faktor yang diketahui bisa mempengaruhi terjadinya penyakit ini seperti (Tapan, 2005):

a. Keturunan

Faktor yang dianggap paling sering menyebabkan diabetes mellitus tipe I ini adalah *genetic* atau keturunan. Anak-anak dari orang tuanya yang penderita diabetes mellitus tipe 1 lebih cenderung mengidap penyakit ini dibandingkan dengan orang tuanya yang tidak menderita penyakit ini.

b. Faktor lain

Faktor-faktor lain yang menyebabkan terjadinya diabetes mellitus tipe I adalah: infeksi virus, obat/zat kimia dan radikal bebas. Infeksi virus yang menimbulkan autoimun yang berlebihan untuk menumpas virus. Akibatnya sel-sel pertahanan tubuh tidak hanya membasmi virus tapi juga merusak sel-sel langerhans (Krisnatuti *et al.*, 2010).

c. Penyakit dan infeksi pada pankreas

Mikroorganisme seperti bakteri dan virus dapat menginfeksi pankreas sehingga menimbulkan radang pankreas. Hal itu menyebabkan sel β pada pankreas tidak bekerja optimal dalam mensekresi insulin. Beberapa penyakit tertentu, seperti kolesterol tinggi dan disipidemia dapat menggunakan risiko terkena.

2.3.3 Mekanisme Terjadinya Diabetes Millitus

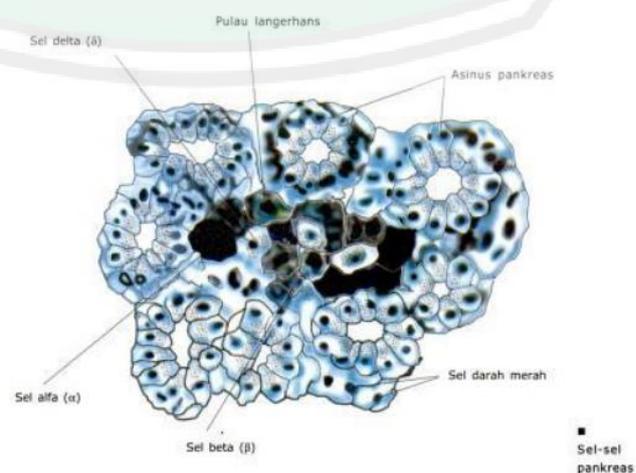
Tubuh mempunyai sistem yang dapat mengatur zat-zat yang dapat mengalir di dalamnya. Demikian pula dengan glukosa, jumlah glukosa dalam tubuh biasanya sangat terkontrol. Manusia mendapatkan glukosa dari makanan yang manis, karbohidrat dan jenis makanan lain (Wijayakusuma, 2008).

Glukosa dalam tubuh akan mengalami proses metabolisme agar dapat dimanfaatkan oleh sel-sel yang membutuhkan. Dalam proses pencernaan

makanan, karbohidrat akan dipecah menjadi molekul yang lebih sederhana, yaitu glukosa agar lebih mudah diserap tubuh. Glukosa diserap ke dalam aliran darah dan bergerak dari aliran darah ke seluruh sel akan digunakan sebagai energi. Tingginya konsumsi karbohidrat menyebabkan konsentrasi glukosa dalam darah meningkat. Oleh karena itu, untuk menormalkan konsentrasi glukosa darah, glukosa diubah dalam dua bentuk, yaitu glikogen (disimpan dalam hati dan otot) dan lemak (disimpan dalam jaringan adipose) (Wijayakusuma, 2008).

Insulin merupakan hormon yang diproduksi oleh pankreas yang terdiri dari dua jaringan utama, yaitu asini yang mensekresi getah pencernaan ke dalam *duodenum* (usus 12 jari) dan pulau Langerhans yang mengandung tiga jenis sel utama, yaitu :

1. Sel α (alfa) yang mensekresi glukagon langsung ke darah
2. Sel β (beta) yang mensekresi insulin langsung ke darah
3. Sel δ (delta) yang mensekresi, fungsi pentingnya belum diketahui dengan pasti



Gambar 2.3 Sel-sel pankreas (sumber: Wijayakusuma, 2008)

Jika glukosa darah belum dibutuhkan oleh sel-sel, kadar glukosa darah yang masih tinggi akan di ubah menjadi glikogen (disimpan dalam hati dan otot) dan lemak (disimpan dalam jaringan adipose) untuk menormalkan kadar glukosa darah (Wijayakusuma, 2008):

2.4 Pengobatan Diabetes Melitus Tipe I

Tujuan pengobatan melalui makanan dan pemberian obat-obatan untuk penderita diabetes mellitus adalah untuk mencegah hiperglisemia, seperti diketahui bahwa hal tersebut bertanggung jawab menurunkan konsekuensi patologis jangka panjang dari penyakit tersebut (Linder, 1992). Berikut ini adalah macam-macam obat yang dapat digunakan dalam menurunkan kadar glukosa darah:

2.4.1 Terapi Insulin

Menurut Maulana (2008) pada diabetes mellitus tipe I, pankreas tidak dapat menghasilkan insulin sehingga perlu diberikan insulin pengganti. Pemberian insulin hanya dapat dilakukan melalui suntikan, insulin dihancurkan di lambung sehingga tidak dapat diberikan per-oral (ditelan), insulin disuntikkan di dalam kulit di bawah lapisan lemak, biasanya di lengan, paha atau dinding perut.

2.4.2 Pengobatan dengan Bahan Alam

Tumbuhan obat terbukti merupakan sumber bagi bahan baku obat anti diabetes mellitus karena diantaranya tumbuhan tersebut memiliki senyawa-senyawa yang berkhasiat sebagai anti diabetes melitus. Senyawa antidiabetes mellitus yang berasal dari tumbuhan obat diantaranya christinin A, xarthone,

bollidfolin, thysanolacton, TAP (suatu polisakarida asam) dan lain-lain. Diantara 250.000 spesies tumbuhan obat diseluruh dunia diperkirakan banyak yang mengandung senyawa antidiabetes mellitus yang belum ditemukan. Untuk mendapatkan obat antidiabetes mellitus dari tumbuhan diperlukan suatu cara-cara pengujian yang memadai mulai dari uji pre-skreening, uji skreening dan berakhir pada uji klinik (Suharmiati, 2003).

2.5 Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

Tikus adalah salah satu binatang yang mempunyai kemampuan menyesuaikan diri paling baik dengan lingkungannya. Tikus yang paling banyak digunakan sebagai sebagai hewan percobaan dan hewan peliharaan adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*). Tikus ini memiliki beberapa keunggulan antara lain penanganan dan pemeliharaan yang mudah karena tubuhnya yang kecil, sehat dan bersih (Malole dan Pramono, 1989).

Klasifikasi tikus putih (*Rattus norvegicus*) menurut Myers dan Armitage (2004) adalah sebagai berikut :

Kingdom	: Animalia
Phylum	: Chordat
Kelas	: Mamalia
Ordo	: Rodentia
Subordo	: Sciurognathi
Famili	: Muridae
Subfamili	: Murinae
Genus	: Rattus
Spesies	: <i>Rattus Norvegicus</i>

Karakter fisik lainnya yaitu memiliki mata yang kecil, telinganya tidak berambut, dan ekor bersisik yang lebih pendek dari pada panjang tubuh dan kepalanya (Maust, 2002). Warna umum dari *Rattus norvegicus* yaitu coklat atau abu-abu kehitaman dengan rambut tersebar, selain itu juga ada yang bewarna abu-abu pucat atau coklat keabu-abuan, dapat juga abu-abu putih, putih hitam atau dua warna, namun tikus laboratorium biasanya merupakan bangsa albino dari *Rattus norvegicus* (Balleger, 2002).

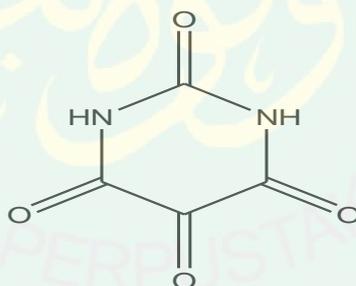


Gambar 2.4 *Rattus norvegicus* (Sumber: Sliper, 2004)

Tikus laboratorium jarang hidup lebih dari 3 tahun, berat badan pada umur 4 minggu dapat mencapai 35-40 g dan setelah dewasa rata-rata 200-250 gram. Variasi berat badan ini tergantung pada galur. Tikus jantan tua dapat mencapai 500 gram tetapi tikus betina jarang sampai 350 gram (Smith dan Mangkowitz, 1987). Total panjang tubuh 440 mm, panjang ekor 205 mm (Maust, 2002).

2.6 Aloksan

Aloksan adalah suatu substrat yang secara struktural adalah derivat pirimidin sederhana. Aloksan diperkenalkan sebagai hidrasi aloksan pada larutan encer. Nama aloksan diperoleh dari penggabungan kata allantoin dan oksalurea (asam oksalurik) (Watkins *et al.*, 2008). Nama lain dari aloksan adalah 2,4,5,6-tetraoxypyrimidin; 2,4,5,6-primidinetetron; 1,3-Diazinan-2,4,5,6-tetron (IUPAC) dan asam Mesoxalylurea 5-oxobarbiturat. Rumus kimia aloksan adalah $C_4H_2N_2O_4$. Aloksan murni diperoleh dari oksidasi asam urat oleh asam nitrat (Watkins *et al.*, 2008). Aloksan adalah senyawa kimia tidak stabil dan senyawa hidrofilik. Waktu paruh aloksan pada pH 7,4 dan suhu 37 °C adalah 1,5 menit (Lenzen, 2008).



Gambar 2.5 Struktur Aloksan (Sumber: Lenzen, 2008)

Aloksan merupakan bahan kimia yang digunakan untuk menginduksi diabetes pada binatang percobaan. Pemberian aloksan adalah cara yang cepat untuk menghasilkan kondisi diabetik eksperimental (hiperglikemik) pada binatang percobaan. Aloksan dapat diberikan secara intravena, intraperitoneal, atau subkutan pada binatang percobaan (Szkudelski, 2008). Aloksan dapat menyebabkan Diabetes Melitus tergantung insulin pada binatang tersebut (aloksan

diabetes) dengan karakteristik mirip dengan Diabetes Melitus tipe 1 pada manusia. Aloksan bersifat toksik selektif terhadap sel beta pancreas yang memproduksi insulin karena terakumulasinya aloksan secara khusus melalui transporter glukosa yaitu GLUT2 (Watkins *et al.*, 2008).

Mekanisme aksi dalam menimbulkan perusakan selektif sel β langerhans pancreas belum diketahui dengan jelas. Efek diabetogeniknya bersifat antagonis terhadap *glutathion* yang bereaksi dengan gugus SH. Aloksan bereaksi dengan merusak substansi esensial di dalam sel β pankreas sehingga menyebabkan berkurangnya granula – granula pembawa insulin di dalam sel β langerhans pancreas (Suharmiati, 2003). Aloksan meningkatkan pelepasan insulin dan protein dari sel β langerhans pancreas tetapi tidak berpengaruh pada sekresi glucagon. Efek ini spesifik untuk sel β pankreas sehingga aloksan dengan konsentrasi tinggi tidak berpengaruh terhadap jaringan lain. Aloksan mungkin mendesak efek diabetogenik oleh kerusakan membran sel beta dengan meningkatkan permeabilitas (Watkins *et al.*, 2008). Dean dan Matthew pada tahun 1972 mendemonstrasikan adanya depolarisasi membran sel β langerhans pancreas dengan pemberian aloksan (Szkudelski, 2008).

Aksi sitotoksik aloksan dimediasi oleh radikal bebas. Aksi toksik aloksan pada sel β langerhans pancreas diinisiasi oleh radikal bebas yang dibentuk oleh reaksi redoks (Watkins *et al.*, 2008). Aloksan dan produk reduksinya, asam dialurik, membentuk siklus redoks dengan formasi radikal superoksida. Radikal ini mengalami dismutasi menjadi hydrogen peroksida. Radikal hidroksil dengan kereaktifan yang tinggi dibentuk oleh reaksi Fenton. Aksi radikal bebas dengan

rangsangan tinggi meningkatkan konsentrasi kalsium sitosol yang menyebabkan destruksi cepat sel beta (Fillipino *et al.*, 2008). Penelitian terhadap mekanisme kerja aloksan secara invitro menunjukkan bahwa aloksan menginduksi pengeluaran ion kalsium dari mitokondria yang mengakibatkan proses oksidasi sel terganggu. Keluarnya ion kalsium dari mitokondria mengakibatkan homeostasis yang merupakan awal dari matinya sel (Suharmiati, 2003).

2.7 Glucometer

Glucometer merupakan alat untuk melakukan pemeriksaan kadar glukosa darah kapiler. Alat ini diperkenalkan tahun 1980 di Amerika Utara dimana saat itu ada dua jenis yakni glucometer (Bayer) dan Accu-Chek meter (Roche). Pembacaan nilai kadar glukosa darah dilakukan dari perubahan warna yang terjadi pada strip. Kemudian seiring perkembangan teknologi ditemukan berbagai alat yang semakin kecil, pembacaan nilai kadar glukosa darah secara digital dan harga yang semakin murah untuk strip yang digunakan (Anonim³, 2007).



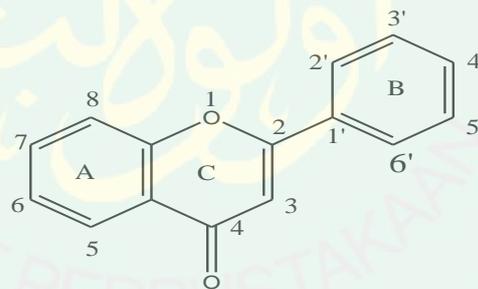
Gambar 2.6 Glucometer (Anonim³, 2007)

Volume darah yang dibutuhkan $\pm 0,3-10 \mu\text{L}$ dengan pembacaan dalam satuan mg/dL atau mmol/L tergantung alat yang digunakan.

Glucometer merupakan metode electrochemical dimana pada strip terdapat elektroda enzim mengandung *glucoze oxidase*. Elektroda ini akan mengukur kadar konsentrasi glukosa darah yang melaluinya.

2.8 Flavonoid

Senyawa flavonoid adalah senyawa polifenol yang mengandung C15 terdiri atas dua inti fenolat yang dihubungkan dengan tiga satuan karbon. Struktur umum flavonoid dapat juga digambarkan sebagai deretan senyawa C6-C3-C6.



Gambar 2.7 Struktur Umum Flavonoid (Sumber: Sastrohamidjojo, 1996)

Semua flavonoid, menurut strukturnya merupakan turunan senyawa induk flavon yang terdapat berupa tepung putih pada tumbuhan. Semua turunan senyawa flavonoid mempunyai sejumlah sifat yang sama. Dikenal sekitar sepuluh kelas flavonoid dengan penyebaran dan ciri khasnya pada tabel 2.2 (Harborne, 1987).

Flavonoid mencakup banyak pigmen yang paling umum dan terdapat pada seluruh dunia tumbuhan dari fungus sampai Angiospermae. Pada tumbuhan

tingkat tinggi, flavonoid terdapat baik dalam bagian vegetatif maupun dalam bunga (Robinson, 1995). Sebagian besar flavonoid alam ditemukan dalam bentuk glikosida dimana unit flavonoid terikat pada satu gula. Flavonoid dapat ditemukan sebagai mono, di atau triglikosida (Achmad, 1986). Flavonoid yang berupa glikosida merupakan senyawa polar sehingga dapat diekstrak dengan etanol, metanol ataupun air. Karena merupakan senyawa fenol, maka warnanya akan berubah bila ditambah basa atau amonia sehingga mudah dideteksi pada kromatogram.

Tabel 2.1 Sifat berbagai golongan flavonoid

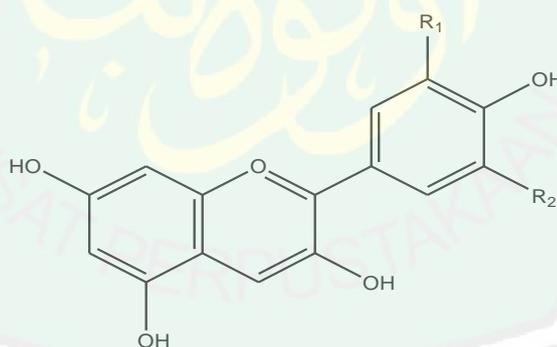
Golongan Flavonoid	Penyebaran	Ciri Khas
Antosianin	Pigmen bunga merah marak, merah, merah senduduk dan biru; juga dalam daun dan jaringan lain	Larut dalam air, λ_{mas} 515-545 nm, bergerak dengan BAA pada kertas
Proantosianidin	Terutama tak warna, dalam daun tumbuhan berkayu	Menghasilkan antosianidin (warna dapat diekstraksi dengan amil alkohol) bila jaringan dipanaskan dengan HCl 2 M selama setengah jam
Flavonol	Terutama ko-pigmen tak warna dalam bunga sianik dan asianik; tersebar luas dalam daun	Setelah hidrolisis berupa bercak kuning murup pada kromatogram forestall bila disinari sinar UV; maksimal spektrum pada 350-386 nm.
Flavon	Seperti Flavonol	Setelah hidrolisis, berupa bercak coklat redup pada kromatogram forestall; maksimal spektrum pada 330-350 nm
Glikoflavon	Seperti Flavonol	Mengandung gula yang terikat melalui C-C; bergerak dengan pengembang air, tidak seperti flavon biasa
Biflavonil	Tak warna, hampir semua terbatas pada gimnospermae	Pada kromatogram BAA berupa bercak redup dengan R_f tinggi
Khalkon dan auron	Pigmen bunga kuning, kadang-kadang terdapat juga dalam jaringan lain	Dengan amonia berwarna merah (<i>in situ</i>), maksimal spektrum 370-410 nm

Flavanon	Tak warna, dalam daun dan buah (terutama dalam citrus)	Berwarna merah kuat dengan Mg/HCl; kadang-kadang sangat pahit
Isoflavon	Tak warna, sering kali dalam akar; hanya terdapat dalam satu suku, leguminosae	Bergerak pada kertas dengan pengembang air, tak ada uji warna yang khas

Sumber: Harborne, 1987

2.8.1 Antosianin

Antosianin merupakan pewarna paling penting dan paling tersebar luas dalam tumbuhan. Secara kimia semua antosianin merupakan turunan suatu struktur aromatik tunggal yaitu sianidin dan semuanya terbentuk dari pigmen sianidin ini dengan penambahan atau pengurangan gugus hidroksil atau dengan metilasi atau glikolisasi (Harborne, 1987).

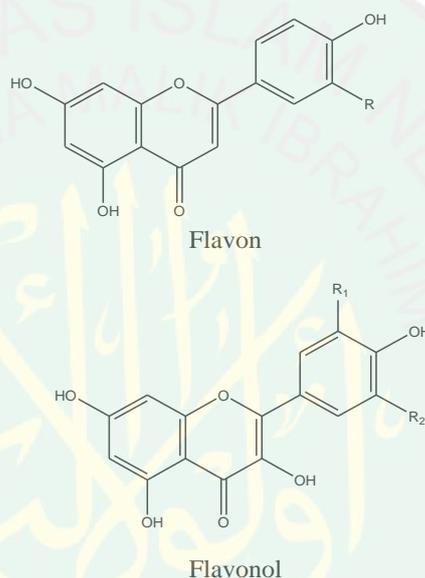


Gambar 2.8 Struktur antosianidin (Sumber: Geissman dan Crout, 1969)

2.8.2 Flavon dan Flavonol

Flavon dan flavonol merupakan flavonoid yang banyak ditemukan di alam. Flavon mempunyai struktur 2-fenil benzopiran-4-on, sedangkan flavonol dapat dianggap sebagai 3-hidroksi flavon. Flavonol sering dijumpai sebagai glikosida. Aglikon yang umum dari flavonol adalah kamferol, kuersetin dan

mirisetin. Sedangkan flavon yang umum, yaitu apigenin dan luteolin, pola hidroksilasinya serupa dengan kaferol dan kuersetin. Flavon berbeda dengan flavonol karena pada flavon tidak terdapat substituen 3-hidroksi. Flavon terdapat juga sebagai glikosida tetapi jenis glikosidanya lebih sedikit daripada jenis glikosida pada flavonol. Struktur flavon dan flavonol adalah (Harborne, 1987):

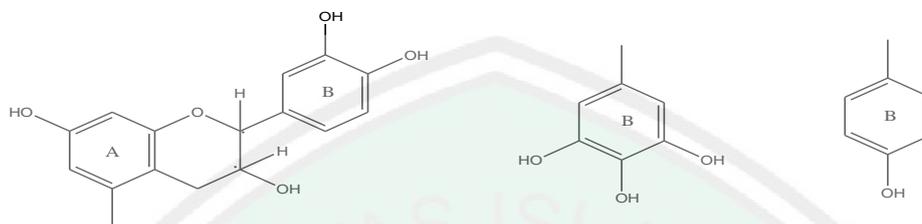


Gambar 2.9 Struktur Flavon dan Flavonol utama (Aglikon) (Markham, 1988).

2.8.3 Katekin

Katekin dan proantosianidin adalah dua golongan senyawa yang mempunyai banyak kesamaan. Semuanya senyawa tanpa warna, terdapat pada seluruh dunia tumbuhan tetapi terutama pada tumbuhan berkayu. Proantosianidin telah ditemukan dalam paku-pakuan dan dua spesies *Equisetum*. Senyawa ini ternyata tidak terdapat pada psifolia, *Lycopodium* sp., dan lumut. Hanya dapat dikenal tiga jenis katekin, perbedaannya hanya terdapat pada gugus hidroksil pada

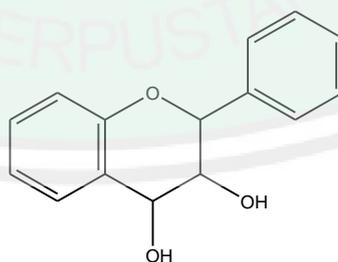
cincin B. Senyawa ini mempunyai dua atom karbon kiral (ditandai dengan bintang) dan karena itu mungkin terdapat 4 isomer (Robinson, 1995):



Gambar 2.10 Struktur Katekin (Sumber: Robinson, 1995)

2.8.4 Tanin

Tanin merupakan golongan senyawa aktif tumbuhan yang bersifat fenol mempunyai rasa sepat dan mempunyai kemampuan menyamak kulit. Secara kimia tanin dibagi menjadi dua golongan, yaitu tanin terkondensasi atau tanin katekin dan tanin terhidrolisis (Robinson, 1995). Tanin terkondensasi terdapat dalam paku-pakuan, gimnospermae dan angiospermae, terutama pada jenis tumbuhan-tumbuhan berkayu. Tanin terhidrolisis penyebarannya terbatas pada tumbuhan berkeping dua (Harborne, 1994).

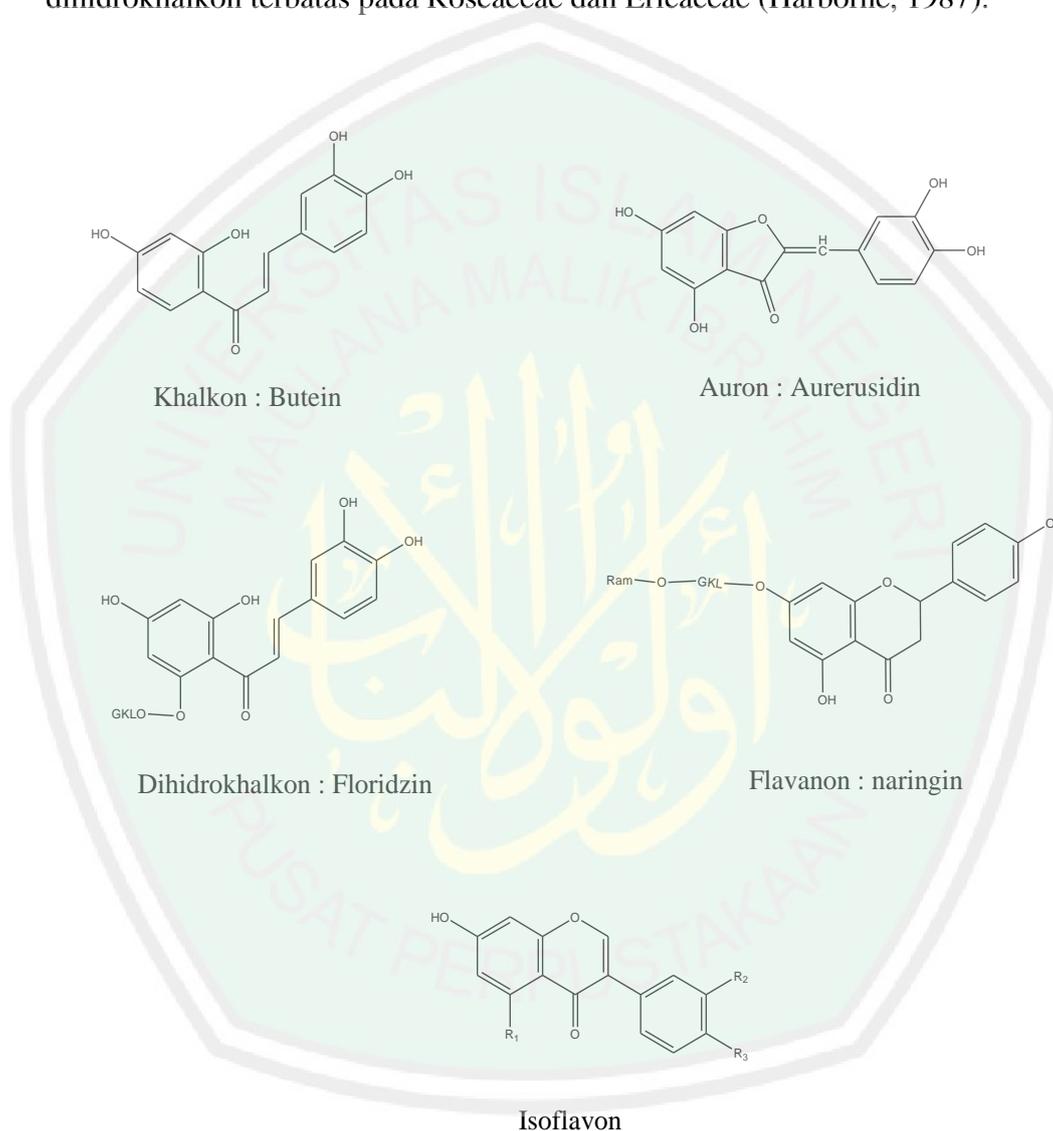


Gambar 2.11 Struktur Tanin (Sumber: Harborne, 1994)

2.8.5 Flavonoid Minor

Khalkon, auron, flavanon, dihidrokhalkon dan isoflavon disebut flavonoid minor karena penyebarannya masing-masing kelas ini terbatas.

Golongan tersebut terdapat secara terbatas pada sangat sedikit golongan tumbuhan. Khalkon dan auron khas dalam Compositae (terutama Coreopsis), dihidrokhalkon terbatas pada Rosaceae dan Ericaceae (Harborne, 1987).



Gambar 2.12 Struktur Flavonoid Minor (Sumber: Arishandy *et al.*, 2010)

2.9 Teknik Pemisahan Senyawa Flavonoid

2.9.1 Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Kromatografi adalah proses pemisahan yang didasarkan atas perbedaan distribusi komponen diantara fase gerak dan fase diam (Vogel, 1978). Pada

kromatografi lapis tipis, cuplikan yang akan dipisahkan ditotolkan pada lapisan tipis yang nantinya akan diabsorpsi oleh zat penyerap dan selanjutnya dielus oleh fase gerak. Pemisahan ini didasarkan berdasarkan sifat polaritas senyawa. Senyawa yang memiliki polaritas hampir sama dengan fase geraknya akan terelusi lebih dulu daripada senyawa dengan sifat polaritas yang berbeda dengan fase geraknya. Dalam kromatografi lapis tipis ini terjadi persaingan antara proses penyerapan yang cenderung menempelkan senyawa dalam fase diam dan proses pelarutan yang cenderung membawa dalam fase gerak (Shellard, 1975).

Kromatografi lapis tipis (KLT) merupakan cara analisi cepat yang memerlukan bahan yang sedikit. Untuk penelitian pendahuluan kandungan flavonoid suatu ekstrak, sudah menjadi kebiasaan umum untuk menggunakan pengembang beralkohol pada pengembangan pertama dengan kromatografi lapis tipis, misalnya butanol-asam asetat-air (BAA) (Markham, 1988).

Metode identifikasi yang sederhana adalah dengan menggunakan nilai Retardation factor (Rf), yang didefinisikan dengan persamaan:

$$R_f = \frac{\text{Jarak yang digerakkan oleh senyawa}}{\text{Jarak yang digerakkan oleh permukaan pelarut}} \dots\dots\dots (1)$$

Tetapi pada gugus-gugus yang besar dari senyawa-senyawa yang susunanya mirip, seringkali harga Rf berdekatan satu sama lainnya (Sastrohamidjojo, 2002).

Tabel 2.2 Petunjuk penafsiran senyawa flavonoid pada kromatogram dengan eluen campuran metanol-kloroform ($1/4 - 9\ 3/4$)

Jenis Flavonoid	Rf ($\times 100$)
Flavonol	

Kaemferol	83
Kuersetin	64
Mirisetin	43
Isoramnetin	74
Azaleatin	48
Gosipetin	31
Flavon	
Apigenin	89
Luteolin	78
Krisoeriol	82
Trisin	73
Glikosiflavon	
Viteksin	41
Isoviteksin	56
Iso-orientin	41
Bulflavonil	
Karyavlavon	98
Khalkon	
Isolikuiritigenin	89
Butein	78
Isolitigenin 4'-glukosida	61
Isosalipurposida	67
Auron	
Sulfuretin	80
Aureusidin	57
Aureusidin 4'-glukosida	49
Aureusidin 6'-glukosida	28
Flavanon	
Narigenin	89
Hespiritin	89
Hesperidin	48
Naringin	59
Dihidrokuersetin	78
Dihidrokhalkon	
Floridzin	75
Isoflavon	
Daidzein	92
Genistein	94
Xanton	
Mangiferin	45

Sumber: Harborne, 1987

Pembandingan Rf flavonoid yang belum dikenal dengan Rf flavonoid yang telah dikenal dan yang sejenis merupakan cara yang berguna untuk membandingkan flavonoid yang sedang diidentifikasi (Markham, 1988).

Flavonoid berupa senyawa polifenol dan warnanya akan berubah bila bereaksi dengan basa sehingga flavonoid mudah dideteksi pada kromatogram. Flavon 7-glikosida berwarna coklat pudar, kuning atau hijau dengan sinar UV dan berubah menjadi hijau-kuning terang dengan uap NH_3 . Isoflavon sukar dicirikan karena reaksinya yang tidak khas dengan pereaksi warna manapun. Beberapa isoflavon (misalnya deidzein) memberikan warna biru muda cemerlang dengan sinar UV bila diuapi amonia, tetapi kebanyakan yang lain (misalnya genestain) tampak sebagai bercak lembayung pudar dengan amonia berubah menjadi coklat pudar (Harborne, 1987).

Menurut Robinson (1995) jika tidak ada pigmen yang mengganggu, jaringan tumbuhan (misalnya daun bunga putih) dapat diuji mengenai adanya flavon dan flavonol dengan diuapi uap amonia. Warna kuning menunjukkan adanya senyawa ini. Kalkon dan auron berubah dari kuning menjadi merah pada uji iji. Jadi ekstrak pigmen dalam air dibasakan, berbagai perubahan warna dapat terlihat, meskipun perubahan pada pigmen yang satu dapat menutupi perubahan pada pigmen lain:

Antosiani	: lembayung-biru
Flavon, flavonol, xanton	: Kuning
Flavanon	: tanpa warna, menjadi merah jingga (terutama jingga jika dipanaskan)
Kalkon dan auron	: segera lembayung merah
Flavanonol	: coklat-jingga

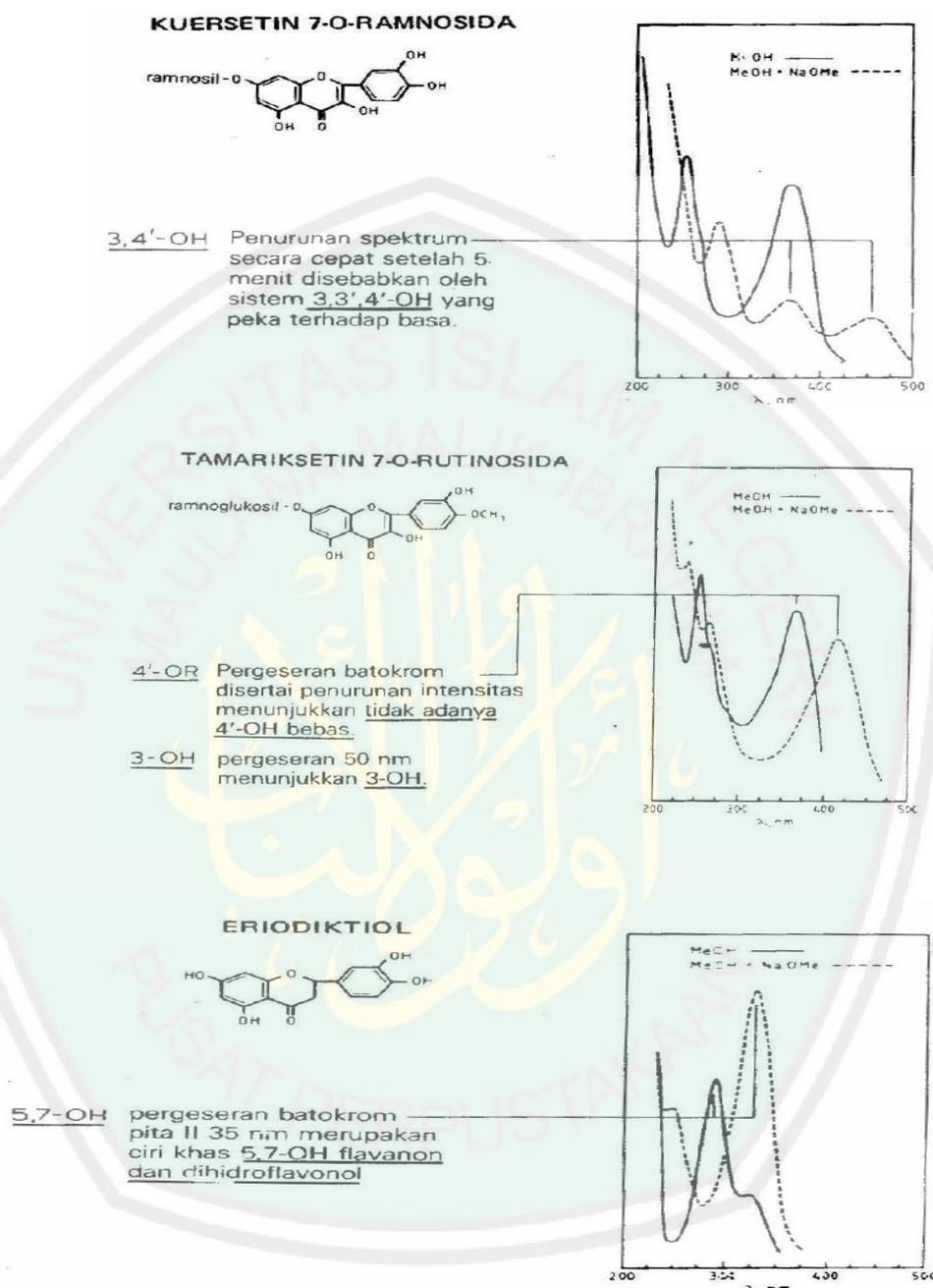
2.9.2 Spektrofotometri UV-Vis

Spektrofotometer UV-Vis merupakan suatu metode identifikasi yang didasarkan pada struktur elektronik molekul, yang dikenal sebagai spektroskopi elektronik (Sastrohamidjojo, 1991).

Penyerapan sinar tampak dan ultraviolet oleh suatu molekul dapat menyebabkan terjadinya eksitasi molekul dari tingkat energi dasar ke tingkat energi yang lebih tinggi. Elektron-elektron yang menyerap radiasi ultraviolet dalam suatu moleku organik adalah elektron-elektron yang terlibat langsung dari ikatan antara dua atom dan elektron-elektron bebas seperti pada atom oksigen, halogen, nitrogen dan belerang (Day and Underwood, 2002)

Transisi yang penting pada daerah ultraviolet dan tampak yaitu transisi $n \rightarrow \pi^*$ dan $\pi \rightarrow \pi^*$ jarang terjadi (Fessenden and Fessenden, 1989). Transisi yang terjadi pada flavonoid yaitu transisi $\pi \rightarrow \pi^*$ akibat adanya ikatan rangkap terkonjugasi dan transisi $n \rightarrow \pi^*$ karena adanya elektron bebas. Flavonoid mengandung sistem aromatik yang terkonjugasi, oleh karena itu menunjukkan pita serapan yang kuat pada daerah ultraviolet dan tampak (Harborne, 1987). Senyawa dengan ikatan rangkap terkonjugasi seperti flavonoid akan mengalami penyerapan radiasi pada panjang gelombang yang lebih besar dari 217 nm (Sastrohamidjojo, 1991).

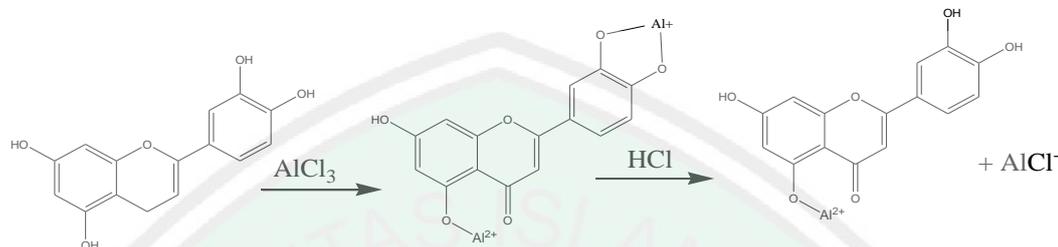
Spektrofotometer UV-vis dapat digunakan untuk mengidentifikasi jenis flavonoid dan menentukan pola oksigenasi. Kedudukan gugus hidroksil fenol bebas pada inti flavonoid dapat ditentukan dengan menambahkan pereaksi geser ke dalam larutan cuplikan dan mengalami pergeseran puncak serapan yang terjadi.



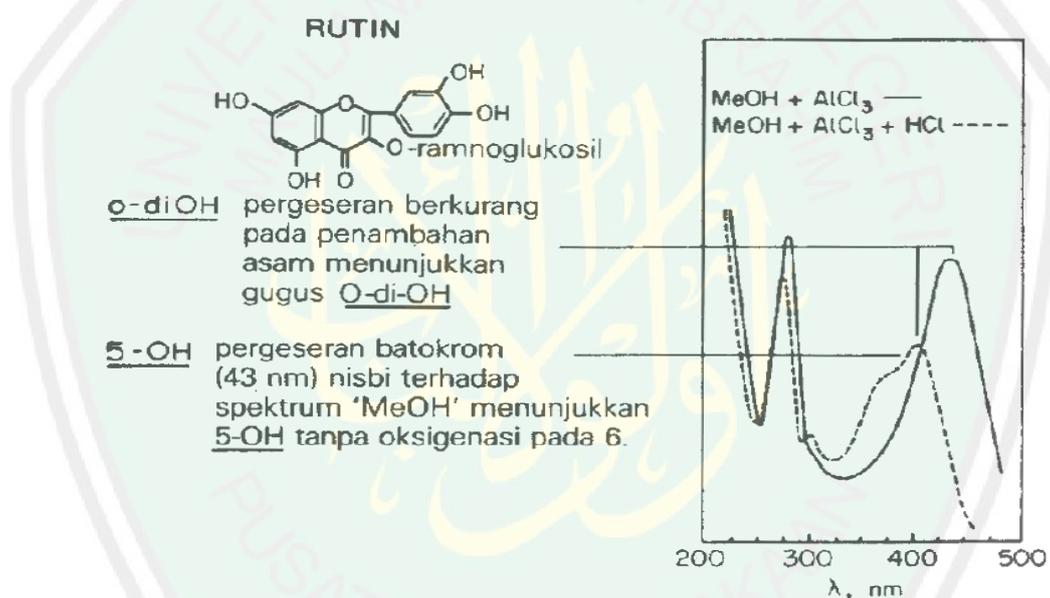
Gambar 2.14 Contoh manfaat pereaksi geser (Sumber: Arishandy *et al.*, 2010)

Penambahahan AlCl_3 5 % dimaksudkan untuk mendeteksi adanya gugus o-hidroksi (biasanya pada posisi 3', 4') dan gugus o-hidroksi keton (4-keto, 5-OH). Karena AlCl_3 dapat membentuk kompleks dengan gugus tersebut.

Sedangkan spektrum AlCl_3/HCl hanya merupakan pengaruh kompleks hidroksi keto. Adapun reaksi pembentukan kompleks tersebut adalah (Markham, 1988):

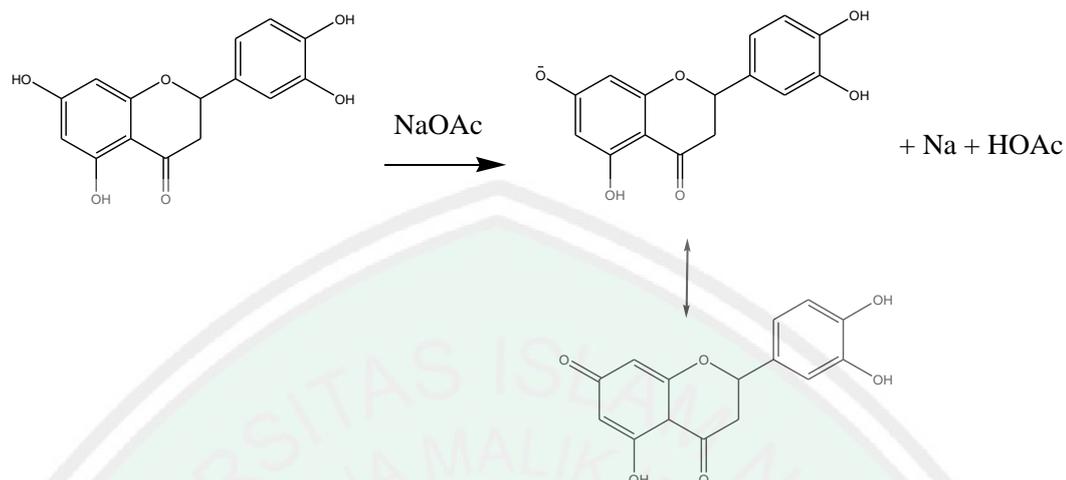


Gambar 2.15 Reaksi pembentukan kompleks flavonoid dengan AlCl_3 dan HCl (Sumber: Markham, 1988)

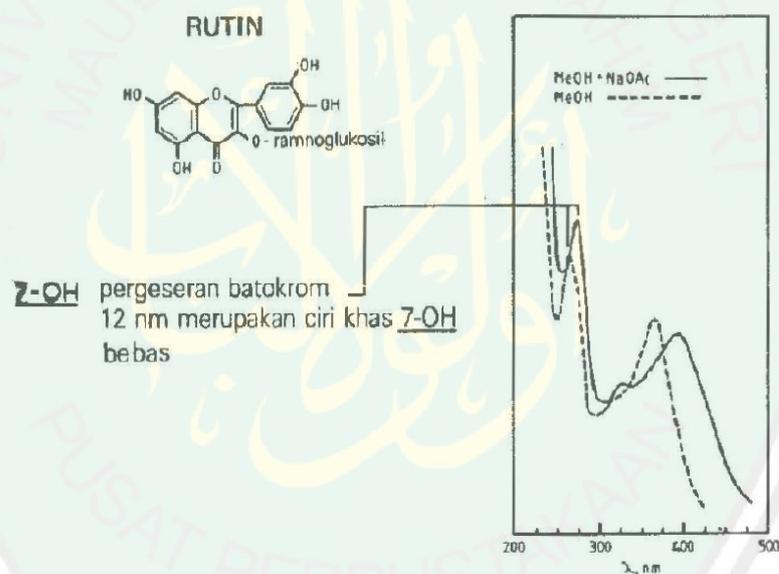


Gambar 2.16 Contoh manfaat pereaksi geser AlCl_3 dan AlCl_3/HCl (Sumber: Arishandy *et al.*, 2010)

Penambahan natrium asetat digunakan terutama untuk mendeteksi adanya gugus 7-hidroksil bebas atau yang setara. Pergeseran terjadi pada pita II seitar 5-20 nm untuk flavon, flavonol dan isoflavon. Sedangkan pergeseran sebesar 35 nm untuk flavanon dan 60 nm untuk dihidroksiflavonol. Reaksi yang terjadi (Markham, 1988):

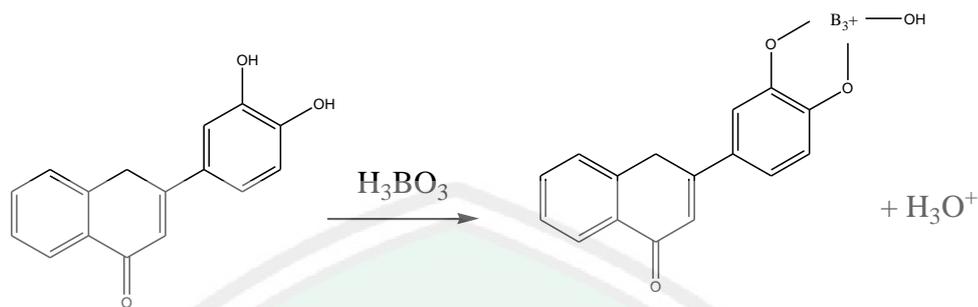


Gambar 2.17 Reaksi NaOAc dengan senyawa flavonoid (Sumber: Markham, 1988)



Gambar. 2.18 Contoh manfaat pereaksi geser NaOAc (Sumber: Markham, 1988)

Penambahan asam borat dimaksudkan untuk mendeteksi orto dihidroksi pada cincin B. Hal ini menyebabkan, pergeseran batokromik pita I sebesar 12-36 nm untuk flavon, flavonol, auron dan khalkon. Reaksi pembentukan kompleks asam borat dengan flavonoid adalah (Markham, 1988):



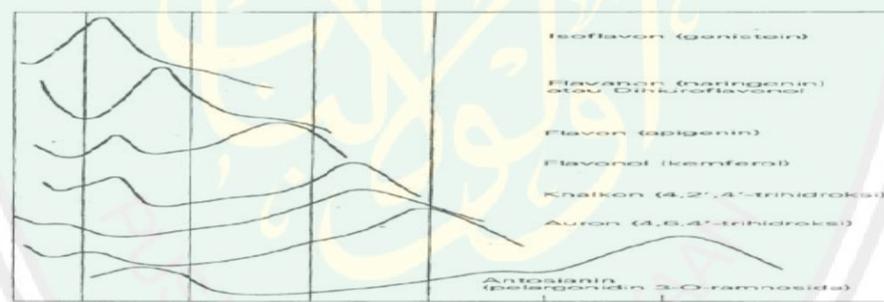
Gambar 2.19 Reaksi pembentukan kompleks asam borat dengan flavonoid (Sumber: Markham, 1988).

Menurut Markham (1988) bahwa spektrum flavonoid biasanya ditentukan dengan pelarut metanol atau etanol. Spektrum khas terdiri dari dua maksima pada rentang 240-285 nm (pita II) dan 300-350 (pita I). Kedudukan yang tepat dan kekuatan nisbi maksimal tersebut memberikan informasi yang berharga mengenai sifat flavonoid dan pola oksigasinya. Ciri khas spektrum tersebut ialah kekuatan yang nisbi yang rendah pada pita I dalam dihidroflavon, dihidroflavonol dan isoflavon serta kedudukan pita I pada spektrum kalkon, auron dan antosianin yang terdapat pada panjang gelombang tinggi. Petunjuk mengenai rentang maksima utama setiap jenis flavonoid dapat dilihat pada Tabel 2.3.

Tabel 2.3 Rentang serapan spektrum UV-Vis flavonoid

Pita II (nm)	Pita I (nm)	Jenis Flavonoid
250-280	310-350	Flavol
250-280	330-360	Flavonol (3-OH tersubstitusi)
250-280	350-385	Flavonol (3-OH bebas)
245-275	310-330 bahu kira-kira	Isoflavon
	320 puncak	Isoflavon (5-deoksi-6,7-dioksigenasi)
275-295	300-330 bahu	Flavanon dan dihidroflavonol
230-270 (kekuatan rendah)	340-390	Khalkon
230-270 (kekuatan rendah)	380-430	Auron
270-280	465-430	Antosianidin dan antosianin

Sumber: Markham, 1988



Gambar 2.20 Spektrum serapan UV-Vis jenis Flavonoid yang berbeda tetapi pola hidroksinya sama (Sumber: Markham, 1988)

2.10 Pemanfaatan Tanaman Sebagai Obat dalam Prespektif Islam

Agama Islam merupakan ilmuwan pada kedudukan yang tinggi, sejajar dengan orang yang beriman. Umat Islam seharusnya mendapatkan semangat yang luar biasa karena banyak perintah dalam al Quran yang menyinggung masalah keilmuan. Allah SWT mewajibkan kepada umatnya untuk menuntut ilmu dan mempergunakan pikiran untuk merenungkan alam, langit, bumi beserta isinya.

Bagi orang yang berfikir, semua itu tidaklah terjadi dengan sendirinya, pasti ada yang menciptakan yaitu Allah SWT. Melalui kegiatan berfikir secara mendalam, manusia hendaknya merenungkan dan menganalisa semua yang ada di alam ini sehingga akan tercipta ilmu pengetahuan disertai rasa kebesaran, kehebatan dan keinginan kepada Allah SWT. Ulul albab adalah orang berakal yang mau menggunakan pikiran, mengambil faedah, hidayah serta selalu mengingat Allah (berdzikir) disetiap waktu dan keadaan (Shibab, 2002). Sebagai manusia kita sangat dianjurkan untuk selalu mencari tahu, dalam hal ini melalui pengadaaan penelitian sehingga dapat mengetahui kekuasaan Allah SWT.

Salah satu ciptaan yang menunjukkan kekuasaan dan anugrah Allah SWT di bumi adalah tumbuhan. Sebagaimana Allah menjelaskan surat al An'aam ayat 95:

﴿إِنَّ اللَّهَ فَالِقُ الْحَبِّ وَالنَّوَىٰ ۗ يُخْرِجُ الْحَيَّ مِنَ الْمَيِّتِ وَمُخْرِجُ الْمَيِّتِ مِنَ الْحَيِّ ۗ ذَٰلِكُمْ اللَّهُ فَانظُرُوا كَيْفَ تُؤَفِّكُونَ ۝٩٥﴾

“Sesungguhnya Allah menumbuhkan butir tumbuh-tumbuhan dan biji buah – buahan. Dia mengeluarkan yang hidup dari yang mati dan mengeluarkan yang mati dari yang hidup (yang memiliki sifat-sifat) demikian ialah Allah. Maka mengapa kamu masih berpaling?” (QS. al An'aam:95).

Berdasarkan firman Allah SWT dalam surat al An'aam ayat 95, dapat diketahui bahwa sungguh Maha Besar dan Maha Kuasa Allah SWT yang mampu menghidupkan sesuatu dari yang mati atau sebaliknya. Seperti umbi yang merupakan perintis tanaman baru. Atas kuasaNya, umbi tanaman tumbuh. Selanjutnya tumbuhan dimanfaatkan makhluk (hewan dan manusia) untuk kelangsungan hidupnya (al-Faran, 2007).

Salah satu pemanfaatan tumbuhan adalah sebagai obat. Hal ini sejalan dengan sabda Nabi Muhammad SAW yang diriwayatkan Jabir bin Abdillah (Fattah, 2010):

إِنَّ اللَّهَ مَا أَنْزَلَ دَاءً إِلَّا أَنْزَلَ لَهُ دَوَاءً عِلْمَهُ مِنْ عِلْمِهِ وَجَهْلَهُ مِنْ جَهْلِهِ فَإِنَّ أَصَابَ الدَّوَاءِ الدَاءَ بَرَأَ بِإِذْنِ اللَّهِ

“*Sesungguhnya Allah tidak menurunkan penyakit melainkan menurunkan obatnya, yang diketahui oleh orang yang mengetahuinya dan tidak diketahui oleh orang yang mengetahuinya. Jika obat meninmpa penyakitm, maka penyakit tersebut hilang dengan seizin Allah*” (Fattah, 2010).

Berdasarkan hadist yang diriwayatkan oleh Jabir bin abdillah, menunjukkan bahwa betapa adilnya Allah SWT yang memberikan suatu penyakit beserta penawarnya (obat) dan penyakit tersebut akan sembuh dengan seizin Allah SWT. Ungkapan hadist ini dapat memberikan penguatan jiwa manusia untuk mengambill pelajaran dari segala ciptaan Allah SWT (dalam hal ini adalah tanaman). Pengetahuan yang akan menuntun manusia untuk menemukan obat-obat yang berasal dari tanaman. Salah satu tanaman adalah tanaman binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis).

BAB III

METODOLOGI

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Kimia Organik Jurusan Kimia dan Laboratorium Bioteknologi Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Februari-Mei 2014.

3.2 Alat dan Bahan Penelitian

3.2.1 Alat

Kandang tikus berupa kotak berukuran 20 x 30 x 40 cm, gunting, pinset, spuit 30 cc, sonde yang dipasang diujung spuit untuk memasukkan ekstrak umbi binahong dengan berbagai dosis langsung kedalam lambung tikus. Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ekstraksi maserasi adalah seperangkat alat gelas, ayakan 60 mesh, blender, cawan porselen, neraca analitik, kertas saring whatman, *shaker*, penyaring *buchner* dan *rotary evaporator*. Kemudian alat yang digunakan untuk pemisahan dengan Kromatografi Lapis Tipis adalah plat KLT silika gel 60 F₂₅₄, bejana pengembang (gelas vial), cawan petri, lemari asam, pinset, lampu UV, dan pipa kapiler.

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian uji antidiabetes diantaranya adalah alat untuk perawatan mencit antara lain: kandang tikus, botol minum tikus, kawat dan tempat makan, *laboratory bottle* 100 mL, *object glass*. Alat untuk

mengambil darah antara lain: gunting steril, jarum pentul, kapas, spuit 1 mL. Alat untuk mengukur kadar glukosa antara lain: *glucotest*, dan pipet. Dan alat yang diperlukan untuk perlakuan terapi antara lain: vial 15 mL dan spuit 1 mL.

3.2.2 Bahan

Penelitian ini menggunakan hewan coba tikus jenis *Rattus norvegicus* strain wistar jantan dengan berat badan awal 150-200 gram. Kondisi tikus dalam keadaan sehat yang ditandai oleh gerakan aktif. Tikus dipelihara dalam kotak kandang berukuran 20 x 30 x 40 cm, dimana setiap kandang berisi 5 ekor tikus.

Bahan kimia yang digunakan dalam ekstraksi maserasi dan uji fitokimia adalah etanol 70 %, reagen Dragendroff, reagen Mayer, metanol 50 %, logam Mg, HCl 2 %, HCl pekat, kloroform, asam asetat anhidrat, aquades, larutan FeCl₃ 1 %, H₂SO₄, HCl 15 %. Kemudian bahan yang digunakan untuk identifikasi golongan senyawa dengan KLT adalah aquades, kloroform (p.a), etanol (p.a), metanol butanol (p.a), asam asetat (p.a), aseton (p.a) dan amoniak.

Bahan yang digunakan dalam perlakuan tikus (uji antidiabetes) yaitu: Aloksan, Ekstrak umbi binahong: umbi binahong, etanol 70 %, CMC-Na, dan NaCl 0,9 %.

3.3 Rancangan Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan penelitian eksperimental laboratorium. Sampel diambil dari bagian tanaman yaitu bagian umbi, kemudian dikeringkan dengan oven pada suhu 60 °C selama 24 jam dan dihaluskan dalam bentuk serbuk menggunakan blender. Selanjutnya serbuk yang diperoleh dianalisis kadar airnya

untuk kemudian diekstraksi maserasi secara bertahap dengan pelarut etanol 70 %. Ekstrak yang diperoleh selanjutnya dipisahkan dari pelarutnya menggunakan *rotary evaporator*. Ekstrak pekat yang diperoleh selanjutnya digunakan untuk uji antidiabetes.

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) dengan 7 ulangan. Perlakuan yang digunakan adalah 4 ekor kelompok kontrol 0 (nol) , 4 ekor kelompok kontrol positif/diinduksi aloksan , 4 ekor kelompok tikus diabetes mellitus tipe I yang diterapi ekstrak umbi binahong dosis 25 mg/Kg BB, 4 ekor kelompok tikus diabetes mellitus tipe I yang diterapi ekstrak umbi binahong dosis 50 mg/Kg BB, 4 ekor kelompok tikus diabetes mellitus tipe I yang diterapi umbi binahong dosis 75 mg/Kg BB, 4 ekor kelompok tikus kontrol negatif dengan diberi CMC-Na 0,5 % 1 mL/200 g BB dan 4 ekor kelompok tikus kontrol obat dengan diberi glibenklamid dosis 0,9 mg/200 g BB.

Kemudian dilakukan identifikasi jenis flavonoid dengan ekstrak dipisahkan menggunakan KLT dengan beberapa eluen, antara lain: campuran n-butanol-asam asetat glasial-air (BAA) dan metanol–kloroform, dengan komposisi meliputi BAA (4:1:5), BAA (6:1:2), dan metanol-kloroform (3:2), (1:19) dan (1:39). Eluen yang memberikan pemisahan paling baik akan digunakan dalam pemisahan dengan KLT preparatif. Kemudian dilanjutkan dengan identifikasi menggunakan spektrofotometri UV-Vis.

Data yang diperoleh diuji dengan menggunakan uji *OneWay* ANOVA (Analisis Variasi) dan selanjutnya dilakukan uji Duncan yang bertujuan untuk mengetahui kelompok mana yang mempunyai perbedaan pada taraf nyata 0,05.

3.4 Tahapan Penelitian

Pada penelitian ini dilakukan beberapa tahap di antaranya :

Tahapan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Preparasi Sampel
2. Penentuan Kadar Air
3. Ekstraksi Umbi Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis)
4. Penyiapan Hewan Coba
5. Pembuatan Larutan Aloksan dan Injeksi Intraperitoneal
6. Pembuatan Tikus Diabetes Mellitus (DM) dan Kontrol
7. Terapi Tikus Diabetes Mellitus (DM) dengan Ekstrak Umbi Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis)
8. Uji Fitokimia dengan Menggunakan Reagen
9. Identifikasi Jenis Flavonoid
10. Analisis Data

3.5 Prosedur Penelitian

3.5.1 Preparasi Sampel (Astuti, tanpa tahun)

Umbi binahong ditimbang sebanyak 2500 g kemudian dicuci, selanjutnya dikeringanginkan, kemudian dikeringkan dengan oven pada suhu 60 °C selama 24

jam. Setelah kering umbi binahong diblender sampai berbentuk serbuk. Kemudian serbuk yang diperoleh diukur kadar airnya.

3.5.2 Analisis Kadar Air (Sriwahyuni, 2010)

Analisa kadar air dilakukan dengan menggunakan metode *thermografi* yaitu dengan pemanasan. Analisis ini dilakukan sebanyak 3 kali pengulangan. Cawan yang digunakan dipanaskan dahulu dalam oven pada suhu 100-105 °C sekitar 15 menit untuk menghilangkan kadar airnya, kemudian cawan disimpan dalam desikator sekitar 10 menit. Cawan tersebut selanjutnya ditimbang dan dilakukan perlakuan yang sama sampai diperoleh berat cawan yang konstan. Sampel dipotong kecil-kecil. Sampel ditimbang sebanyak 5 g dan dimasukkan ke dalam cawan penguap yang telah diketahui beratnya, selanjutnya dikeringkan ke dalam oven pada suhu 100-105 °C selama sekitar 1 jam. Sampel kering didinginkan dalam desikator dan ditimbang. Sampel tersebut dipanaskan kembali dalam oven ± 20 menit pada suhu yang sama, didinginkan dalam desikator dan ditimbang kembali. Perlakuan ini diulangi sampai tercapai berat konstan. Kadar air dalam tanaman dihitung menggunakan rumus berikut:

$$\text{Kadar air} = \frac{(b-c)}{(b-a)} \times 100 \% \quad \dots\dots\dots (3.1)$$

Keterangan: a = berat konstan cawan kosong

b = berat cawan + sampel sebelum dikeringkan

c = berat konstan cawan + sampel setelah dikeringkan

$$\text{Faktor koreksi} = \frac{100}{100 - \% \text{ kadar air}} \quad \dots\dots\dots (3.2)$$

% Kadar air terkoreksi = Kadar air – Faktor koreksi

Setelah memperoleh nilai % kadar air terkoreksi pada serbuk umbi binahong, selanjutnya dilakukan pemblenderan yang bertujuan untuk lebih memperkecil ukuran partikel dan untuk memperoleh serbuk halus dengan ukuran lebih besar dari 60 mesh (dilakukan pengayakan dengan ayakan 60 mesh). Kemudian serbuk halus tersebut diekstraksi dengan maserasi menggunakan pelarut etanol 70 %.

3.5.3 Ekstraksi Umbi Binahong

Umbi binahong sebanyak 250 gram dibagi menjadi 5 bagian masing-masing 50 gram kemudian masing-masing diekstraksi dengan menggunakan etanol 70 % 250 mL dengan cara maserasi selama 2 hari (setiap hari dikocok dengan menggunakan *shaker* selama 3 jam) yang sebelumnya dilakukan pengocokan selama 3 jam menggunakan *shaker*, kemudian masing-masing residu yang diperoleh diekstraksi kembali selama 1 hari menggunakan etanol 70 % 250 mL.

Masing-masing ekstrak yang diperoleh dipisahkan dengan *rotary evaporator* pada suhu tidak lebih dari 60 °C. Ekstrak pekat yang diperoleh selanjutnya dilakukan uji antidiabetes *in vivo* dalam tubuh tikus dan identifikasi senyawa flavonoid.

3.5.4 Uji Antidiabetes

3.5.4.1 Preparasi Hewan Coba

Penelitian dilakukan dengan tujuh kelompok perlakuan. Jumlah sampel dari tiap kelompok perlakuan dihitung menggunakan rumus Federer (Felicia, 2009).

Rumus Federer: $(n-1)(t-1) \geq 15$; dengan $t = \text{jumlah kelompok} = 7$

$n = \text{jumlah pengulangan tiap sampel}$

$$(n-1)(7-1) \geq 15$$

$$(n-1)6 \geq 15$$

$$6n - 6 \geq 15 \text{ maka, } n \geq 3,5 \geq 4$$

Berdasarkan perhitungan tersebut maka jumlah sampel minimal yang diperlukan adalah empat sediaan tikus untuk setiap kelompok perlakuan. Sehingga jumlah minimal seluruh sampel yang digunakan adalah 28 ekor tikus. Pada penelitian tikus dipelihara dalam *animal house* Laboratorium Biologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang. Ketentuan dari tiap-tiap kelompok adalah sebagai berikut:

- 4 ekor kelompok kontrol 0 (nol)
- 4 ekor kelompok kontrol positif/diinduksi aloksan
- 4 ekor kelompok tikus diabetes mellitus tipe I yang diterapi ekstrak etanol umbi binahong dosis 25 mg/Kg BB
- 4 ekor kelompok tikus diabetes mellitus tipe I yang diterapi ekstrak etanol umbi binahong dosis 50 mg/Kg BB

- 4 ekor kelompok tikus diabetes mellitus tipe I yang diterapi ekstrak etanol umbi binahong dosis 75 mg/Kg BB
- 4 ekor kelompok tikus kontrol negatif (CMC-Na + aquades) 1 mL/200 g BB
- 4 ekor kelompok tikus kontrol obat dengan diberi glibenklamid dosis 0,9 mg/200 g BB

3.5.4.2 Pembuatan Larutan Aloksan (Ratimanjari, 2011)

Aloksan 1600 mg dilarutkan pada NaCl 0,9 % sampai volumenya 50 mL, selanjutnya divortex hingga homogen. Larutan aloksan stok selanjutnya digunakan untuk injeksi dengan dosis yang volume pengambilannya disesuaikan dengan berat badan tikus. Larutan stok disimpan pada suhu 4 °C.

Aloksan yang akan di injeksikan diambil dari larutan stok. Volume yang diambil disesuaikan dengan berat badan tikus yang akan diinjeksi. Digunakan dosis 32 mg/200 g BB secara intraperitoneum setiap 4 hari sekali sampai kadar glukosa darahnya di atas 300 mg/dL (tikus sudah menjadi diabetes mellitus tipe I).

Tikus diposisikan menghadap ke arah frontal hingga terlihat bagian abdomennya. Pada bagian atas abdomen tikus disemprot dengan etanol 70 %, kulit dicubit hingga terasa bagian ototnya, spuit dimasukkan pada bagian abdomen dan dicoba digerakkan, apabila terasa berat maka sudah masuk pada daerah intraperitoneal. Setelah yakin pada daerah intraperitoneal maka aloksan segera dimasukkan secara perlahan (BB 200 g = 1 mL). Selanjutnya abdomen tikus di semprot dengan etanol 70 % kembali.

3.5.4.3 Pembuatan Tikus Diabetes Mellitus (DM) (Lukiati *et al.*, 2012)

Tikus yang telah diinjeksi dengan aloksan (dosis 32 mg/200 g BB) secara intraperitoneum setiap 4 hari sekali sampai kadar glukosa darahnya di atas 300 mg/dL (tikus sudah menjadi diabetes mellitus), diinkubasi selama 7-14 hari. Selama 7-14 hari tikus dipantau kadar glukosa darahnya menggunakan *glucometer* untuk mengetahui kondisi tikus diabetes.

3.5.4.4 Pengukuran Kadar Glukosa Darah Menggunakan *Gluco DR* (Astuti, 2012)

Pengukuran kadar glukosa darah dilakukan dengan *Gluco-DR* dimasukkan ke dalam slot yang terdapat pada alat sampai alat menyala dan pada layar terdapat tanda tetesan yang menunjukkan strip siap untuk ditetaskan darah. Bagian dari ekor tikus kemudian di cukur dengan pisau bedah hingga pembuluh darah vena terlihat jelas. Ekor kemudian dibasuh dengan alkohol 70 %, kemudian ditoreh secara melintang dengan pisau bedah hingga terbentuk luka kecil. Darah yang keluar kemudian diaplikasikan pada pisau berwarna kuning di strip. Hasil yang keluar pada layar digital dari glucometer merupakan kadar glukosa darah yang dicari.

3.5.4.5 Pembuatan Tikus Kontrol Obat dan Kontrol Negatif (Ratimanjari, 2011)

Kelompok kontrol obat diberi glibenklamid dosis 0,9 mg/ 200 g BB. Pembuatan suspensi glibenklamid dengan cara, ditimbang 500 mg CMC-Na kemudian ditaburkan pada akuades panas, lalu diaduk sampai CMC-Na mengembang, lalu ditambahkan 90 mg glibenklamid dan ditambah dengan

aquades sampai volumenya 100 ml. Setelah itu, diaduk sampai homogen (1 mL/200 g BB).

Kelompok kontrol pelarut diberi pelarut dengan dosis 1 mL/200 g BB. Pembuatan pelarut dengan cara, ditimbang 350 mg CMC-Na kemudian ditaburkan pada aquades panas, lalu diaduk sampai CMC-Na mengembang, Setelah itu, ditambah dengan aquades sampai volumenya 70 ml.

3.5.4.6 Terapi Tikus Diabetes dengan Ekstrak Umbi Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis)

Tikus diabetes mellitus tipe I diterapi dengan ekstrak umbi binahong dengan dosis 25 mg/Kg BB, 50 mg/Kg BB dan 75 mg/Kg BB sebanyak 14 kali (14 hari berturut-turut) (Saleh *et al.*, 2012). Untuk sediaan uji dosis 25 mg/Kg BB, ditimbang 500 mg CMC-Na kemudian ditaburkan pada aquades panas, lalu diaduk sampai CMC-Na mengembang, lalu ditambahkan 3150 g ekstrak umbi binahong dan ditambah dengan aquades sampai volumenya 100 ml. Setelah itu, diaduk sampai homogen. Untuk sediaan uji dosis 50 mg/Kg BB, caranya sama seperti tersebut di atas, tetapi ekstraknya sebanyak 6300 mg sementara untuk sediaan uji dosis 75 mg/Kg BB, caranya juga sama seperti tersebut di atas, tetapi ekstraknya sebanyak 9450 mg. Selanjutnya dijadikan sebagai larutan stok. Saat akan menginjeksikan volume yang diambil disesuaikan dengan berat badan tikus diabetes mellitus yang akan diterapi (BB 200 g = 1 mL) (Studiawan dan Muldja, 2005).

3.5.5 Uji Fitokimia dengan Reagen (Indrayani *et al.*, 2006).

Uji fitokimia dengan reagen untuk mengetahui kandungan senyawa aktif dalam ekstrak etanol 70 % tanaman binahong. Uji fitokimia kandungan senyawa aktif dengan uji reagen dari ekstrak pekat etanol 70 % dari umbi binahong dilarutkan dengan sedikit masing-masing pelarutnya. Kemudian dilakukan uji alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, dan terpenoid.

3.5.5.1 Uji Alkaloid

Sebanyak 500 μL ekstrak umbi binahong konsentrasi 10.000 ppm dimasukkan dalam tabung reaksi, kemudian ditambah 0,5 mL HCl 2 % dan larutan dibagi dalam tiga tabung. Tabung 1 larutan ditambah 0,5 mL larutan asam encer sebagai pembanding, tabung 2 ditambah 2 - 3 tetes reagensia Dragendorff, dan tabung 3 ditambah 2 - 3 tetes reagensia Mayer. Jika tabung 2 terbentuk endapan jingga dan pada tabung 3 terbentuk endapan kekuning-kuningan menunjukkan adanya alkaloid.

3.5.5.2 Uji Flavonoid

Sebanyak 500 μL ekstrak umbi binahong konsentrasi 10.000 ppm dimasukkan dalam tabung reaksi, kemudian dilarutkan dalam 1 - 2 mL metanol panas 50%. Setelah itu ditambahkan serbuk Mg dan 4 - 5 tetes HCl pekat. Larutan berwarna merah atau jingga yang terbentuk menunjukkan adanya flavonoid.

3.5.5.3 Uji Tanin

Sebanyak 500 μL ekstrak umbi binahong konsentrasi 10.000 ppm dilarutkan dalam 1 - 2 mL air dan ditambahkan 2 tetes larutan FeCl_3 , timbulnya

warna biru kehitaman menunjukkan adanya senyawa tannin galat dan jika warnanya hijau kehitaman menunjukkan adanya senyawa tanin katekol.

3.5.5.4 Uji Saponin

Sebanyak 500 μL ekstrak umbi binahong konsentrasi 10.000 ppm dimasukkan dalam tabung reaksi dan ditambah 10 mL air sambil dikocok selama 1 menit, apabila menimbulkan busa ditambahkan 2 tetes HCl 1 N, apabila busa yang terbentuk bisa tetap stabil maka ekstrak positif mengandung saponin.

3.5.5.5 Uji Terpenoid

Sebanyak 500 μL ekstrak umbi binahong konsentrasi 10.000 ppm dimasukkan dalam tabung reaksi, kemudian dilarutkan dalam 0,5 mL kloroform, lalu ditambah dengan 0,5 mL asam asetat anhidrat. Selanjutnya campuran ini ditetesi dengan 1 - 2 mL H_2SO_4 pekat melalui dinding tabung tersebut. Jika hasil yang diperoleh berupa cincin kecoklatan atau violet pada perbatasan dua pelarut menunjukkan adanya terpenoid.

3.5.6 Identifikasi Flavonoid

Pada tahap ini dilakukan pemisahan senyawa flavonoid dengan KLT analitik dan preparatif. KLT analitik yang bertujuan untuk mencari eluen terbaik pemisahan senyawa flavonoid dari ekstrak etanol 70 % umbi binahong (*Anredera coridilia* (Ten) Steenis), hasil yang diperoleh digunakan sebagai eluen untuk KLT preparatif.

3.5.6.1 Ekstraksi Flavonoid Dari Ekstrak Pekat Umbi Binahong (Markham, 1998)

Ekstrak kasar sebanyak 8 gram dihidrolisis dengan 16 mL HCl 15 %, kemudian diekstraksi cair-cair dengan pelarut air : kloroform (1:1), ekstraksi dilakukan secara bertahap (3×35 mL). Fasa air dan fasa organik yang diperoleh masing-masing dipisahkan. Masing-masing yaitu lapisan atas (fasa air) dan lapisan bawah (fasa organik) yang diduga sebagai ekstrak flavonoid dipekatkan dengan rotary evaporator kemudian ditentukan nilai rendemennya dan dilakukan identifikasi senyawa flavonoid yang terdapat dalam ekstrak dengan KLT.

3.5.6.2 Pemisahan Senyawa Flavonoid dengan KLT Analitik (Arishandy *et al.*, 2010)

Pemisahan dengan KLT analitik menggunakan plat silika gel 60 F₂₅₄ dengan ukuran 1×10 cm. Dalam Markam (1998) disebutkan bahwa pada umumnya eluen yang digunakan untuk memisahkan komponen-komponen dalam bahan alam yang diduga mengandung flavonoid adalah campuran n-butanol - asam asetat glasial - aquades (BAA) dan metanol - kloroform dengan komposisi meliputi BAA (4:1:5), BAA (6:1:2) dan metanol - kloroform (3:2), (1:9) dan (1:39).

Sebanyak 1000 mg ekstrak flavonoid umbi binahong diencerkan dengan menambahkan 1 mL etanol 70 %, kemudian ditotolkan (10-15) pada plat KLT pada jarak 1 cm dari garis bawah menggunakan pipa kapiler. Kemudian dikeringkan di udara dan dielusi sejauh 8 cm. Noda yang ada diperiksa dengan lampu UV. Hasil pemisahan pada KLT analitik diidentifikasi menggunakan uap

amonias. Kromatogram yang sudah kering diletakkan di atas botol yang berisi amonia. Noda yang terbentuk diperiksa dengan lampu UV pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm.

Eluen yang memberikan paling baik akan digunakan dalam pemisahan dengan KLT preparatif.

3.5.6.3 Pemisahan Senyawa Flavonoid dengan KLT Preparatif (Arishandy *et al.*, 2010)

Pemisahan dengan KLT preparatif menggunakan plat silika gel 60 F₂₅₄ dengan ukuran 10 × 10 cm. Sebanyak 1000 mg ekstrak flavonoid umbi binahong diencerkan dengan menambahkan 1 mL etanol 70 %, kemudian ditotolkan sepanjang plat pada jarak 1 cm dari garis bawah dan 1 cm dari garis tepi dan jarak satu sama lainnya 1 cm. Selanjutnya dielusi dengan menggunakan pelarut yang memberikan pemisahan yang terbaik hasil KLT analitik. Masing-masing senyawa flavonoid akan membentuk noda yang terpisah berdasarkan harga R_f nya. Kemudian masing-masing noda yang diperoleh dikerok dan dilarutkan dengan metanol.

3.5.6.3 Identifikasi Senyawa Flavonoid dengan Spektrofotometer UV-Vis (Markham, 1988)

Isolat-isolat diperoleh hasil KLT preparatif, dianalisis dengan spektrofotometer UV-Vis. Masing-masing isolat sebanyak 2 mL, dimasukkan dalam kuvet dan diamati spektrumnya pada panjang gelombang 200-600 nm.

Identifikasi dilanjutkan dengan penambahan pereaksi geser NaOH 2 M, AlCl_3 5 %, NaOAc, H_3BO_3 . Kemudian diamati pergeseran puncak serapannya.

Tahapan kerja penggunaan pereaksi geser adalah sebagai berikut:

1. Isolat yang diduga sebagai flavonoid diamati pada panjang gelombang 200-600 nm, direkam dan dicatat spektrum yang dihasilkan.
2. Isolat dari tahap 1 ditambahkan 3 tetes NaOH 2 M kemudian dikocok hingga homogen dan diamati spektrum yang dihasilkan.
3. Isolat dari tahap 1 kemudian ditambah 6 tetes pereaksi AlCl_3 5 % dalam metanol kemudian dicampurkan hingga homogen dan diamati spektrumnya. Selanjutnya ditambahkan 3 tetes HCl, campuran dikocok hingga homogen dan diamati spektrumnya.
4. Isolat dari tahap 1 ditambahkan serbuk natrium asetat kurang dari 250 mg. Campuran dikocok sampai homogen menggunakan vortex dan diamati lagi spektrumnya. Selanjutnya larutan ini ditambah asam borat kurang lebih 150 mg dikocok sampai homogen dan diamati spektrumnya.

3.6 Analisis Data

Analisis data, parameter yang digunakan adalah penurunan kadar glukosa darah puasa dari hari ke-1 sampai hari ke-14 dari semua kelompok. Penurunan kadar glukosa darah puasa dari semua dianalisis dengan uji *OneWay* ANOVA pada tingkat kepercayaan 95 %. Data yang diperoleh diuji dengan menggunakan uji *OneWay* ANOVA untuk melihat pengaruh penambahan konsentrasi ekstrak etanol 70 % umbi binahong terhadap kadar glukosa darah tikus putih. Selanjutnya

dilakukan uji Duncan yang bertujuan untuk mengetahui kelompok mana saja yang mempunyai perbedaan pada taraf nyata 0,05 (Studiawan dan Muldja, 2005).

Penggolongan senyawa aktif dilakukan dengan identifikasi hasil uji warna dengan kepekatan warna yang dihasilkan pada masing-masing ekstrak dengan tanda berikut:

1. ++: terkandung senyawa lebih banyak/warna pekat
2. + : terkandung senyawa/warna muda.
3. - : tidak terkandung senyawa/tidak terbentuk warna.

Data yang diperoleh dianalisa secara deskriptif dengan memperhatikan pola pemisahan pada kromatogram dari berbagai eluen yang digunakan. Eluen terpilih pada KLT analitik adalah yang memberikan pemisahan yang baik (dilihat dari jumlah spot dan pola pemisahan), digunakan sebagai eluen pada KLT preparatif untuk pemisahan senyawa flavonoid. Identifikasi senyawa flavonoid dilakukan dengan memperhatikan bentuk umum spektrum UV-Vis.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Preparasi Sampel

Preparasi sampel yang dilakukan meliputi pencucian, pengeringan dan penyerbukan sampel. Pencucian dilakukan untuk menghilangkan kotoran berupa tanah dan daun yang menempel pada umbi binahong. Pengeringan dilakukan untuk mengurangi kandungan air (Baraja, 2008). Penyerbukan sampel dilakukan dengan cara pemblenderan kemudian disaring menggunakan ayakan 60 mesh. Pengayakan dilakukan untuk menyamakan ukuran serbuk. Pada ukuran tersebut, dinding sel mulai terbuka sehingga memaksimalkan kontak antara pelarut dan sampel pada saat maserasi, menyebabkan ekstrak yang terekstrak maksimal (Kumala, 2007). Pada penelitian ini sampel umbi binahong basah berwarna coklat kehijauan dipreparasi sebanyak 1 kg. Hasil yang diperoleh berupa serbuk umbi binahong berwarna hijau keruh, berukuran ≥ 60 mesh sebanyak 500 g.

4.2 Analisis Kadar Air

Penentuan kadar air dilakukan untuk mengetahui kandungan zat di dalam tumbuhan sebagai persentase bahan kering dan waktu simpan sampel. Analisis kadar air pada penelitian ini dilakukan pada sampel yang telah dikeringkan. Analisis kadar air dilakukan dengan mengeringkan serbuk simplisia pada suhu 100-105 °C agar air yang terikat secara fisik dapat teruapkan (Harjadi, 1993).

Prinsipnya adalah penghilangan air yang terdapat dalam sampel dengan pemanasan menggunakan oven pada suhu di atas titik didih air yaitu 100-105 °C

hingga diperoleh berat konstan (Winarno, 2002). Selisih berat sampel sebelum dan sesudah pengeringan menunjukkan banyaknya air yang telah diuapkan. Kadar air umbi binahong adalah 5,38 %.

Kadar air menentukan *acceptability*, kesegaran dan daya tahan suatu sampel (Winarno, 2002). Apabila kadar air yang terkandung dalam suatu bahan kurang dari 10 % maka kestabilan optimum suatu bahan akan dapat dicapai, pertumbuhan mikroba dapat dikurangi dan proses ekstraksi dapat berjalan lancar (Puspita, 2009).

Berdasarkan hasil pengukuran kadar air sampel kering yakni sebesar 5,38 % diketahui bahwa sampel yang dianalisis mempunyai kadar air yang cukup baik untuk dilakukan proses ekstraksi. Menurut Kumala (2007) semakin kecil kadar air suatu sampel, maka semakin mudah pelarut untuk mengekstrak komponen senyawa aktif, sehingga akan diperoleh rendemen yang semakin besar.

4.3 Ekstraksi Komponen Aktif Umbi binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) steenis)

Ekstraksi merupakan metode pemisahan suatu zat berdasarkan perbedaan kelarutan terhadap dua cairan yang tidak saling larut (Khopkar, 2008). Metode ekstraksi yang digunakan pada penelitian ini adalah metode maserasi.

Prinsip utama dalam maserasi adalah mengekstrak senyawa aktif yang terdapat dalam pelarut berdasarkan tingkat kepolaran masing-masing pelarut (*like dissolves like*) (Khopkar, 2008). Metode ini didasarkan pada perendaman sampel dengan pelarutnya pada suhu ruang, selanjutnya sampel akan mengalami

pemecahan dinding sel dan membran sel akibat perbedaan tekanan antara di dalam dan di luar sel sehingga metabolit sekunder yang ada dalam sitoplasma akan terlarut pada pelarut (Voight, 1994).

Umbi binahong dimaserasi dengan pelarut etanol 70 %. Pemilihan pelarut etanol 70 % karena lebih mudah dalam melarutkan semua zat baik yang bersifat polar, semipolar dan nonpolar. Etanol 70 % sebagai penyari dapat memperbaiki stabilitas bahan terlarut dan sangat efektif dalam menghasilkan jumlah bahan aktif yang optimal, dimana bahan pengotor hanya dalam skala kecil turut dalam larutan pengestraksi (Lidnilla, 2013).

Dilakukan pengadukan pada saat maserasi dengan *shaker* berkecepatan 120 rpm selama 3 jam. Tujuannya agar kejenuhan pelarut terjadi lebih cepat dan ekstrak yang diperoleh lebih homogen (Vogel, 1978). Proses maserasi dilakukan dengan penggantian pelarut setiap harinya hingga diperoleh filtrat bening yang mengidentifikasi senyawa telah terekstrak secara maksimal (Voight, 1994).

Penyaringan merupakan proses pemisahan partikel yang terdapat didalam suatu bahan cair sehingga diperoleh filtrat yang diinginkan (Schmitt, 1996 dalam Diniyah). Hasil ekstraksi umumnya masih mengandung bahan ikatan lain yang terdapat dalam residu. Penyaringan dimaksudkan untuk memisahkan antara filtrat dan residu.

Menurut Sudarmaji *et al.*, (2006) penyaringan ada dua macam yaitu penyaringan tanpa pengisapan dan penyaringan dengan pengisapan (penyaringan vakum). Penyaringan dalam penelitian ini menggunakan penyaring vakum untuk mempercepat proses penyaringan.

Filtrat dan rendemennya dipisahkan dengan cara disaring menggunakan corong *Buchner* dan kertas saring. Prinsip penyaringan dengan corong *Buchner* adalah penyaringan secara mekanis berdasarkan ukuran molekul, sehingga molekul yang berukuran lebih besar akan tertahan pada kertas saring (Vogel, 1978).

Filtrat yang diperoleh kemudian dipekatkan dengan *vacum rotary evaporator*. Pemekatan atau penguapan dilakukan untuk menghilangkan atau menguapkan pelarut etanol 70 % sehingga didapatkan ekstrak pekat. Pemekatan dilakukan dengan menggunakan *vacum rotary evaporator* pada suhu 60 °C. Proses ini dihentikan ketika pelarut sudah tidak menetes lagi pada labu alas bulat. Prinsip utama *rotary evaporator* adalah adanya penurunan tekanan dengan dipercepatnya putaran labu alas bulat sehingga pelarut akan menguap 5-10 °C pada suhu dibawah titik didih pelarut (Vogel, 1978).

Menurut Sabel dan Waren (1973) dalam Diniyah (2005), waktu dan penggunaan suhu penguapan harus diperhatikan karena mempengaruhi hasil ekstrak. Penggunaan suhu diatas titik didih pelarut yang digunakan menyebabkan banyaknya pelarut yang terbuang dan selain itu dapat merusak komponen senyawa aktif dalam ekstrak.

Teknik pemekatan dapat dilakukan pada tekanan atmosfer maupun kondisi vakum. Menurut Esci (2004) dalam Diniyah (2005), penguapan yang dilakukan pada suhu tinggi dapat menyebabkan kerusakan komponen-komponen yang terkandung dalam produk pangan yang rentan dalam suhu tinggi. Untuk meminimalisasi kerusakan komponen-komponen tersebut maka penguapan

dilakukan dalam kondisi vakum lebih menghemat energi dan proses penguapan berlangsung lebih cepat.

Pemekatan dengan menggunakan *rotary evaporator vacum* menghasilkan pelarut yang dapat digunakan lagi dan ekstrak pekat yang diperoleh berupa padatan berwarna hitam. Hasil ini ditunjukkan pada tabel 4.1 dengan perhitungan rendemen pada Lampiran 6.

Tabel 4.1 Hasil maserasi ekstrak etanol-air 70 % umbi binahong

Pelarut	Serbuk+pelarut yang digunakan	Perubahan warna filtrat	Warna ekstrak pekat	Berat ekstrak pekat (g)	Rendemen (%) (b/b)
Metanol-air (70:30)	500 g + 2250 mL	Coklat tua pekat sampai kuning benng	Hitam pakat-coklat tua.	47,47 g	9,49 %

Ekstrak kasar yang diperoleh digunakan untuk uji antidiabetes dan uji fitokimia menggunakan reagen. Sementara untuk identifikasi flavonoid dilakukan proses hidrolisis terhadap ekstrak kasar. Ekstraksi ke dua adalah dilakukan proses hidrolisis asam menggunakan larutan HCl 15 % pada ekstrak kasar etanol-air (70:30) umbi binahong. Prinsip hidrolisis asam adalah peruraian suatu senyawa dengan cara memutus ikatan glikosida menggunakan air dan katalis asam (Saifudin *et al.*, 2006). Kemudian hidrolisisnya dipekatkan dengan *rotary evaporator vacum* (Kaur and Murphy, 2012).

Tujuan penambahan HCl 15 % (asam kuat) adalah sebagai untuk mempercepat pemutusan ikatan glikosida antara senyawa glikon (gula) dan aglikon (bukan gula). Asam kuat lebih cepat memutuskan H⁺ secara sempurna di

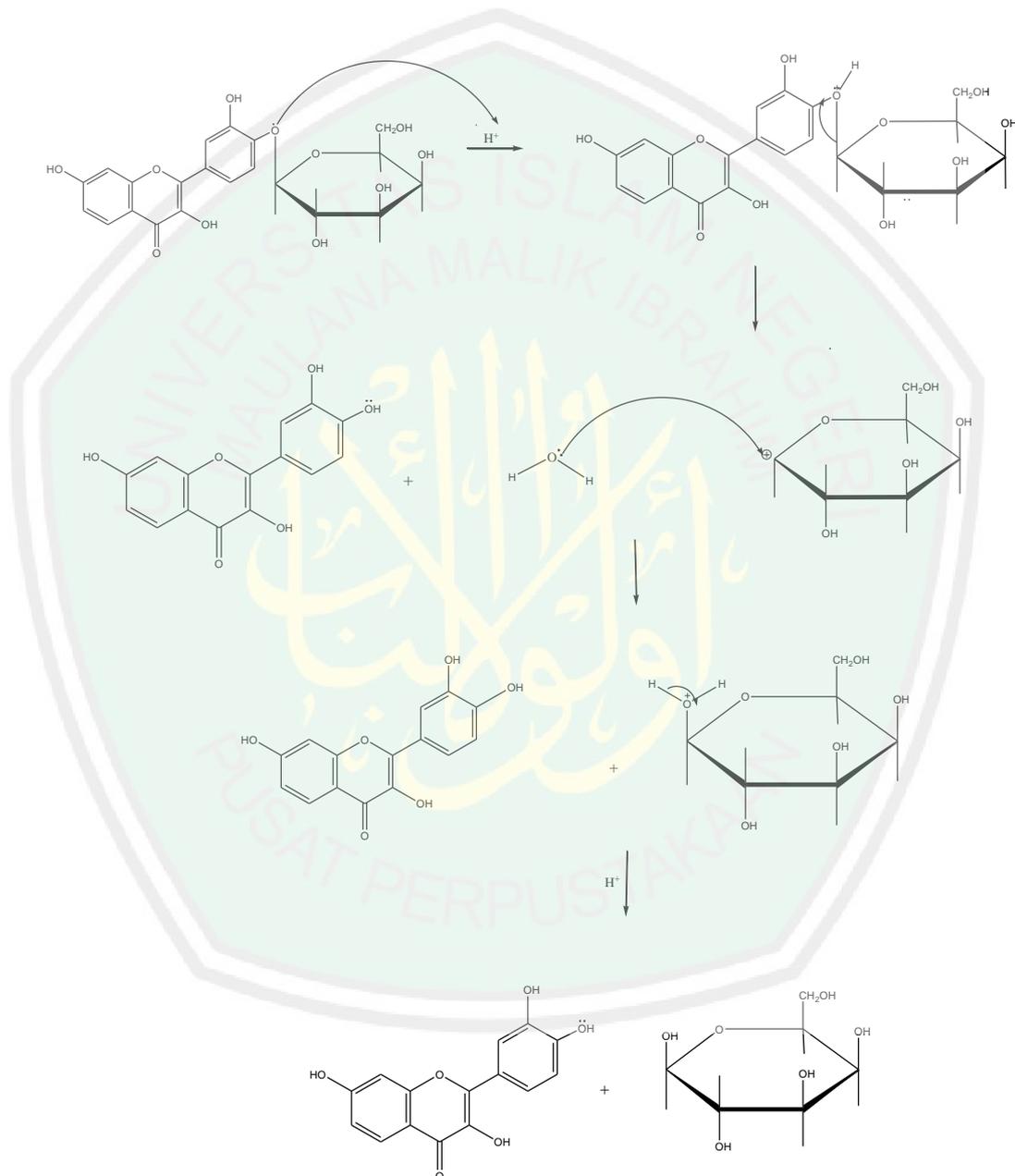
dalam air. Konsentrasi ion H^+ inilah yang mempengaruhi kecepatan reaksi pemutusan ikatan glikosida. Hidrolisat hasil hidrolisis berwarna coklat kehitaman. Sedangkan ekstrak yang diperoleh berupa padatan berwarna coklat tua pekat. Hasil ini ditunjukkan pada Tabel 4.2 dengan perhitungan rendemen pada Lampiran 6.

Tabel 4.2 Hasil hidrolisis ekstrak etanol-air 70 % umbi binahong

Pelarut	Ekstrak pakat + pelarut yang digunakan	Perubahan warna filtrat	Warna ekstrak pekat	Berat ekstrak pekat (g)	Rendemen (%) (b/b)
Kloroform	8,02 g + 48 mL	Coklat pekat	Hitam	6,01	74,94

Ekstrak pekat yang telah dihidrolisis ini selanjutnya diekstraksi cair-cair menggunakan corong pisah dengan pelarut air-kloroform (1:1) dengan tujuan untuk memisahkan glikosida yang bersifat lebih polar dan aglikon flavonoid yang bersifat lebih bersifat non polar. Kesempurnaan ekstraksi tergantung dengan banyaknya ekstraksi yang dilakukan. Hasil yang baik diperoleh jika jumlah ekstraksi yang dilakukan berulang kali dengan jumlah pelarut sedikit-sedikit. Ekstraksi bertahap baik digunakan jika perbandingan distribusi besar. Dari hasil ekstraksi cair-cair tersebut, kemudian lapisan atas (fasa air) yang dimungkinkan mengandung gula, HCl dan sisa senyawa flavonoid yang tidak terhidrolisis sementara lapisan bawah (fasa organik) yang mengandung aglikon flavonoid kemudian dipisahkan. Fasa air dan fasa organik kemudian dipisahkan kembali

menggunakan *rotary evaporator* dan dapat dipisahkan lebih lanjut dengan menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT).



Gambar 4.1. Reaksi dugaan hidrolisis flavonoid glikosida dengan HCl (Arishandy *et al.*, 2010).

4.4 Uji Antidiabetes

Pengujian antidiabetes dalam penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui pengaruh dari ekstrak etanol 70 % umbi binahong dalam menurunkan kadar glukosa darah dalam berbagai variasi dosis bertingkat yaitu pada 25 mg/Kg BB, 50 mg/Kg BB dan 75 mg/Kg BB (Saleh *et al.*, 2012). Peningkatan kadar glukosa darah pada hewan coba dilakukan dengan menggunakan metode induksi aloksan yaitu induksi hewan percobaan dengan aloksan, karena aloksan bekerja pada pankreas dengan cara merusak sel-sel β langerhans pankreas sehingga menghasilkan sedikit insulin dan terjadi hiperglikemia.

Pengujian antidiabetes ini dilakukan secara *in vivo* terhadap hewan uji coba yakni tikus *Rattus norvegicus* dengan *code ettick* 221 KEP UB yang berumur 2 bulan dengan berat badan antara 100-150 g. Penelitian ini menggunakan hewan percobaan berupa tikus putih jantan galur *Rattus norvegicus*, alasan digunakan tikus jantan karena ia memiliki aktivitas hormonal yang lebih stabil dibandingkan tikus betina dan pemilihan penggunaan tikus karena tikus tidak terlalu fotofobil seperti mencit (Sani, 2008).

Pada pengujian antidiabetes, tikus yang akan digunakan untuk perlakuan diusahakan dalam keadaan yang seragam seperti umur dan galurnya harus sama, hal ini dilakukan dengan tujuan untuk memperkecil variabilitas biologis sehingga dapat memberikan respon yang lebih seragam terhadap rangsangan yang diberikan. Sebelum dilakukan perlakuan, tikus dipelihara terlebih dahulu dalam kandang yang beralas serbuk kayu dan anyaman kawat sebagai penutupnya serta pemberian makan dan minum secara *ad libitum* selama dua minggu dengan tujuan

agar tikus dapat beradaptasi dengan lingkungan barunya seperti kandang, makanan dan sekitarnya. Pemberian makan dan minum secara *ad libium* ini maksudnya pemberian makan dan minum secara bebas dan terus menerus sampai tikus itu berhenti sendiri sesuai keinginannya.

Pengelompokan tikus dilakukan berdasarkan rentang berat badan tikus yang ada secara acak. Pengacakan dalam pengelompokan ini bertujuan agar dalam masing-masing kelompok perlakuan terdapat tikus dengan berat badan rentan 100-150 g sehingga setiap tikus mempunyai kesempatan yang sama sebagai sampel. Tikus dikelompokkan menjadi 7 kelompok perlakuan yaitu kontrol normal (nol), kontrol positif, kontrol negatif, dan kelompok perlakuan dosis 25 mg/Kg BB, 50 mg/Kg BB, dan 75 mg/Kg BB serta kelompok obat yang diberi glibenklamid.

Kontrol normal (nol) merupakan kelompok yang tanpa diberi perlakuan dengan tujuan untuk mengetahui kadar glukosa tikus normal yang tanpa diberi perlakuan. Kontrol negatif merupakan kelompok yang tanpa diinduksi aloksan namun diberi CMC-Na sehingga fungsi dari kontrol negatif untuk mengetahui ada pengaruh yang disebabkan dari pemberian pelarut CMC-Na. Kontrol positif merupakan kelompok kontrol yang diinduksi dengan aloksan dan hanya diberi CMC-Na secara per oral. Kontrol positif ini diberikan berfungsi untuk membandingkan efek antidiabetes dengan sampel yang telah diteliti selain itu juga untuk membuktikan kevalidan dari metode yang dilakukan.

Dosis yang digunakan pada penelitian ini telah mewakili dosis yang memiliki pengaruh terhadap penurunan kadar glukosa yakni dengan variasi dosis

bertingkat sebesar 25 mg/Kg BB, 50 mg/Kg BB dan 75 mg/Kg BB. Dimana pada penelitian Saleh *et al.*, (2012) dilakukan tiga variasi dosis tersebut terhadap tikus diabetes yang telah diinduksi oleh glukosa sebanyak 5 %.

Pembuatan masing-masing dosis yang digunakan untuk antidiabetes tersebut sesuai dengan perhitungan dosis pembuatan larutan pada Lampiran 4. Pelarut yang digunakan untuk melarutkan ekstrak adalah pelarut yang relatif tidak berbahaya dan tidak memiliki efek samping terhadap hewan uji. Dalam penelitian ini pelarut yang digunakan terapi pada hewan adalah CMC-Na. Pemilihan pelarut CMC-Na ini dilakukan karena pelarut ini bersifat netral dan tidak memberikan efek samping terhadap hewan uji. Selain itu larutan CMC-Na berbentuk agak kental atau gel yang memudahkan dicerna oleh tikus dibandingkan dengan larutan yang berbentuk cair.

Pemberian dosis ekstrak atau perlakuan terapi pada hewan coba tikus ini dilakukan setelah diinduksi tikus dengan aloksan. Pembuatan larutan aloksan sesuai dengan perhitungan dosis pembuatan pada Lampiran 4. Setelah kadar glukosa darah telah mencapai 300 mg/dL maka perlakuan terapi dapat dilakukan. Dalam pembuatan larutan aloksan, sebaiknya digunakan dalam keadaan *fress* atau segar, karena larutan aloksan yang *fress* atau segar akan berwarna pink (merah muda) sementara aloksan yang telah teroksidasi menjadi tak berwarna (bening). Sehingga kemampuan aloksan dalam menginduksi tikus untuk diabetes mellitus menjadi berkurang. Induksi aloksan pada hewan coba dilakukan secara *intraperitoneal*. Penyuntikan secara *intraperitoneal* ini dilakukan pada perut sebelah kanan pada bagian tengah agar tidak mengenai hati dan kantung empedu

kemih. Sebelum disuntikkan, bagian tengkuk tikus dipegang kemudian dibalikkan sehingga bagian perutnya tampak dan kulit abdomennya menjadi tegang. Setelah itu, daerah yang akan disuntik dibersihkan dengan alkohol antiseptik. Selanjutnya jarum suntik ditusukkan dengan kemiringan 30 derajat sampai menembus kulit dan otot masuk kerongga peritoneal. Pada saat penyuntikkan posisi bagian kepala lebih rendah daripada badan. Setelah penginduksian aloksan ke seluruh tikus kontrol dilakukan pengukuran kadar glukosa. Pengukuran kadar glukosa darah ini menggunakan alat *glucometer DR* setiap empat hari sekali agar kadar glukosa darah yang digunakan berada dalam rentang kadar glukosa darah yang telah ditentukan yakni 300 mg/dL. Pengamatan kadar glukosa darah dilakukan pada hari ke-0, hari ke-1 setelah positif terkena diabetes mellitus, hari ke-7 dan hari ke-14 sebagai kontrol. Apabila kadar glukosa darah telah mencapai 300 mg/dL maka dilakukan terapi obat atau ekstrak larutan uji (Lukiati *et al.*, 2012).

Pemberian terapi obat atau ekstrak larutan uji pada tikus harus diberikan melalui jalur yang biasa digunakan pada manusia yaitu jalur oral. Tikus akan diterapi obat secara peroral, dimana zat tersebut diberikan dengan alat suntik yang dilengkapi dengan jarum atau kanula berujung tumpul dan berbentuk bola. Jarum atau kanula dimasukkan ke dalam mulut tikus secara perlahan-lahan dengan diluncurkan melalui langit-langit ke belakang sampai *esofagus*. Kemudian dimasukkan ekstrak secara cepat untuk mengurangi kesalahan (tidak tertelannya obat) dalam memberikan obat atau ekstrak larutan uji pada tikus. Pemberian terapi ketika kadar glukosa darah tikus telah mencapai 300 mg/dL atau lebih dihitung sebagai H-1 (pada hari ke-1 yaitu hari ketika kadar glukosa darah telah mencapai

300 mg/dL) sehingga tidak berpengaruh terhadap efek antidiabetes pada masing-masing kelompok. Terapi yang diberikan selama 14 hari dengan tujuan untuk mengetahui peningkatan kadar glukosa darah serta diharapkan dalam waktu 14 hari tersebut sudah dapat menurunkan kadar glukosa darah tikus secara efektif.

Hasil pemeriksaan kadar glukosa darah tikus selama hari ke-0 sampai hari ke-14 dapat ditunjukkan pada Tabel 4.3.

Tabel 4.3 Rata-rata kadar glukosa darah serta standart deviasi ekstrak etanol 70 % umbi binahong serta standar deviasi (Lampiran 16).

Kelompok Perlakuan (mg/kgBB)	Rerata Kadar Glukosa Darah (mg/dL) ± Standar Deviasi			
	H-0	H-1	H-7	H-14
Kontrol Nol	124,25 ± 10,05	116,75 ± 8,26	89,25 ± 15,41	112,25 ± 16,34
Kontrol Negatif	101,5 ± 15,35	114,25 ± 40,85	74,25 ± 11,87	121,75 ± 2,36
Kontrol Positif	87 ± 21,56	445 ± 58,76	303,5 ± 47,54	430 ± 61,34
Kontrol Glibenklamid	102 ± 9,13	346 ± 61,29	450 ± 124,96	336,75 ± 113,83
Umbi Binahong 25 mg/KgBB	107,5 ± 25,37	483,75 ± 39,56	382,5 ± 64,84	175,25 ± 34,19
Umbi Binahong 50 mg/KgBB	93,25 ± 24,30	418,25 ± 69,43	242,75 ± 137,62	261,5 ± 114,84
Umbi Binahong 75 mg/KgBB	88 ± 23,34	443,5 ± 124,86	296 ± 121,29	136,75 ± 89,28

Keterangan:

Kontrol nol : kontrol yang tanpa perlakuan

Kontrol Negatif : tidak diinduksi dengan aloksa hanya diberi CMC-Na

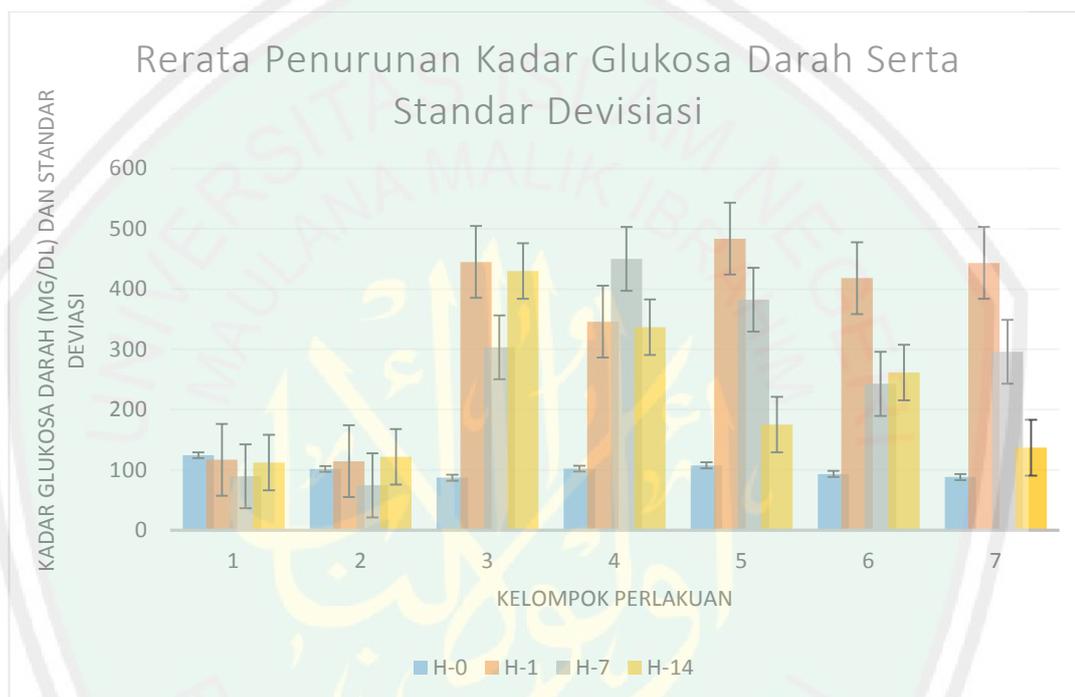
Kontrol Positif : diinduksi dengan aloksan hanya diberi CMC-Na

Penggunaan dosis pada penelitian ini menggunakan dosis yang telah dikonversikan ke dalam dosis tikus yakni dalam satuan mg/g BB. Perhitungan konversi ke dalam bentuk berat badan tikus ini disajikan dalam Lampiran 4. Namun yang dicantumkan dalam pembahasan ini menggunakan konversi dosis pada manusia. Sedangkan untuk dosis glibenklamid yang digunakan ini merupakan perhitungan dari obat glibenklamid itu sendiri. Dimana dosis glibenklamid dalam 1 tablet mengandung 5 mg. Sedangkan dosis yang dibutuhkan manusia adalah 5 mg per hari. Sehingga ketika dikonversikan ke dosis manusia yang rata-rata berat badan manusia adalah 70 kg maka didapat dosis glibenklamid per BB manusia adalah sebesar 0,00045 mg/BB.

Pada Tabel 4.3 menunjukkan bahwa hasil rata-rata kadar glukosa darah semua perlakuan pada hari ke-0 masih dibawah dari 140 mg/dL. Ini menunjukkan bahwa tikus-tikus kontrol yang digunakan kadar glukosa darahnya masih normal sebelum diinduksi oleh aloksan. Kemudian dari uji ANOVA satu arah pada Lampiran 7, didapatkan bahwa nilai signifikasinya adalah 0,155. Hal ini menunjukkan bahwa kadar glukosa darah tikus pada masing-masing kelompok tidak memiliki perbedaan. Selain itu, pada hari ke-0 diperoleh kadar glukosa darah yang beragam. Hal ini disebabkan oleh adanya variasi biologis, sehingga tidak mungkin didapatkan kadar yang tepat sama antar tikus yang berbeda.

Kadar glukosa darah puasa hari ke-1 memperlihatkan hasil induksi diabetes oleh aloksan. Berdasarkan Tabel 4.3 menunjukkan perbedaan antara kelompok negatif dan nol bila dibandingkan dengan seluruh kelompok lain. Sedangkan, seluruh kelompok pemberian bahan uji tidak memiliki perbedaan

dengan kontrol diabetes yang menunjukkan bahwa seluruh kelompok yang akan diberi perlakuan telah mengalami diabetes. Perbedaan kenaikan kadar glukosa darah setelah induksi aloksan disebabkan oleh variasi biologis dalam hewan uji.



Gambar 4.2 Grafik derajat kadar glukosa darah perlakuan ekstrak etanol 70 % umbi binahong terhadap berbagai kontrol serta standart deviasi

Keterangan:

- 1 : Kontrol Nol
- 2 : Kontrol Negatif
- 3 : Kontrol Positif
- 4 : Kontrol Glibenklamid
- 5 : Pemberian ekstrak etanol umbi binahong dosis 25 mg/kg BB
- 6 : Pemberian ekstrak etanol umbi binahong dosis 50 mg/kg BB
- 7 : Pemberian ekstrak etanol umbi binahong dosis 75 mg/kg BB

Gambar 4.2 menunjukkan grafik derajat kadar glukosa darah pada semua kelompok perlakuan ekstrak etanol 70 % umbi binahong terhadap semua kelompok. Nilai standart deviasi ini mengukur seberapa luas penyimpangan atau sebaran nilai data (nilai kadar glukosa darah) dari nilai rata-rata. Apabila nilai

standart deviasi ini kecil, maka dapat menunjukkan bahwa data tersebut berkumpul atau mengelompok di sekitar rata-rata hitungnya, sebaliknya, apabila nilai standart deviasi terlalu besar, maka penyebaran akan semakin besar. Standart deviasi yang baik memiliki nilai yang tidak melebihi dari nilai rata-rata dari kadar glukosa darah. Karena dengan nilai standar deviasi yang besar maka akan menunjukkan adanya perbedaan yang jauh diantara rata-rata yang digunakan. Nilai standar deviasi yang diperoleh dalam penelitian ini, yang mana dilakukan untuk mengukur bagaimana nilai-nilai kadar glukosa darah yang tersebar.

Pada Tabel 4.3 yang menunjukkan peningkatan kadar glukosa darah pada kontrol positif semakin meningkat atau stabil dengan bertambahnya hari perlakuan. Hal ini menunjukkan bahwa kemampuan dari sel β Langerhans pankreas telah berkurang dalam memproduksi insulin. Sehingga yang berdampak pada peningkatan kadar glukosa darah yang telah mencapai lebih dari 300 mg/dL. Pada hari ke-0 kadar glukosa darah pada tikus kontrol positif masih berada pada kontrol normal. Sedangkan pada hari ke-1, kadar glukosa darah pada kontrol positif telah terjadi peningkatan yang mana pada hal ini tikus telah diinduksi dengan aloksan dan mengalami diabetes mellitus. Sementara itu pada hari ke-7, kadar glukosa tikus mengalami penurunan hal ini dimungkinkan dikarenakan kemampuan dari tubuh tikus itu sendiri yang mampu untuk menurunkan kadar glukosa. Namun pada hari ke-14, tikus kontrol positif telah mengalami kenaikan kadar glukosa darah, hal ini dimungkinkan karena kemampuan dari tubuh tikus dalam menurunkan kadar glukosa telah berkurang. Menurut Dor (2004) penurunan kadar glukosa darah yang ada pada kontrol positif ini disebabkan

karena induksi dari aloksan tidak merusak seluruh sel β Langerhans pankreas sehingga insulin masih dapat disekresi. Walaupun mengalami penurunan kadar glukosa darah tikus kontrol positif pada hari terakhir perlakuan masih termasuk dalam kategori diabetes mellitus.

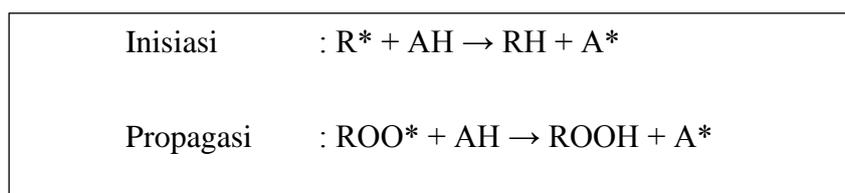
Kontrol glibenklamid belum mampu menurunkan kadar glukosa darah pada hari ke-7 bila dibandingkan dengan hari ke-1 paska tikus diinduksi dengan aloksan. Menurut Suherman (2007) hal ini mungkin terjadi karena glibenklamid terikat kuat pada protein plasma, terutama albumin. Akibatnya tidak terlihat penurunan kadar glukosa darah pada kontrol glibenklamid. Namun pada hari ke-14 kontrol glibenklamid telah mampu menurunkan kadar glukosa darah. Hal ini dimungkinkan glibenklamid telah mampu bekerja dalam meningkatkan sekresi insulin melalui interaksinya dengan ATP-sensitive K channel pada sekresi insulin melalui interaksinya dengan ATP-sensitive K channel pada membran sel-sel β menimbulkan depolarisasi membran dan keadaan ini akan membuka kanal Ca. Dengan terbentuknya kanal Ca, maka ion Ca^{2+} akan masuk ke dalam sel β kemudian merangsang granula yang berisi insulin dan akan terjadi sekresi insulin (Wibudi *et al.*, 2008).

Penurunan kadar glukosa darah pada perlakuan terapi ekstrak etanol 70 % umbi binahong 1 (dosis 25 mg/Kg BB) terjadi penurunan kadar glukosa darah bila dibandingkan dengan kontrol positif pada hari ke-7 sampai hari ke-14 paska terapi. Sementara itu, pada perlakuan terapi ekstrak etanol 70 % umbi binahong 2 (dosis 50 mg/kgBB) dan umbi binahong 3 (dosis 75 mg/kgBB) juga terjadi

penurunan kadar glukosa darah bila dibandingkan dengan kontrol positif pada hari ke-7 sampai hari ke-14.

Antioksidan terlibat dalam pencegahan kerusakan sel yang merupakan situs jalan biasa bagi kanker dan berbagai jenis penyakit seperti diabetes. Untuk menghindari kerusakan sel akibat radikal bebas, antioksidan berfungsi sebagai agen penurun dan menurunkan oksidator sebelum merusak sel, kerusakan sel harus dikurangi (Sani, 2008). Hal ini dapat menerangkan bagaimana ekstrak etanol 70 % umbi binahong yang bertindak sebagai antioksidan yang melindungi sebagai tindakan radikal bebas.

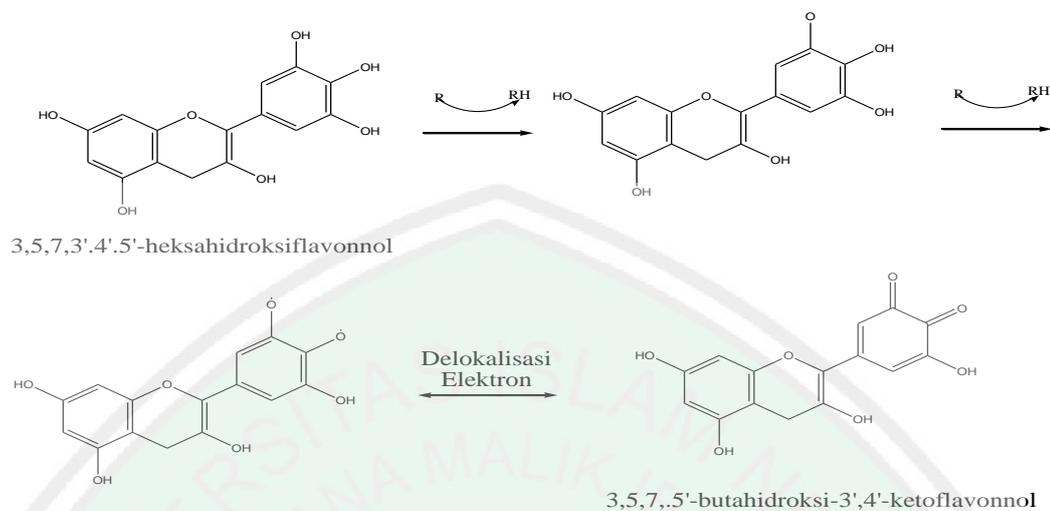
Mekanisme kerja antioksidan memiliki dua fungsi. Fungsi pertama merupakan fungsi utama dari antioksidan yaitu sebagai pemberi atom hidrogen. Antioksidan (AH) yang mempunyai fungsi utama tersebut sering disebut sebagai antioksidan primer. Senyawa ini dapat memberikan atom hidrogen secara cepat ke radikal lipida (R^* , ROO^*) atau mengubahnya ke bentuk lebih stabil, sementara turunan radikal antioksidan (A^*) tersebut memiliki keadaan lebih stabil dibandingkan radikal lipida. Fungsi kedua merupakan fungsi sekunder antioksidan, yaitu memperlambat laju antioksidan dengan berbagai mekanisme diluar mekanisme pemutusan rantai antioksidasi dengan pengubahan radikal lipida ke bentuk lebih stabil (Jati, 2008).



Gambar 4.3 Reaksi penghambat antioksidan primer terhadap radikal lipida (Jati, 2008).

Menurut Aulanni'am *et al.*, (2012) kandungan dari ekstrak berupa flavonoid yang berlaku sebagai antioksidan. Struktur dari flavonoid yang mempunyai lebih dari satu komponen fenol (mempunyai sistem aromatik dan OH grup) dan mempunyai ikatan rangkap terkonjugasi. Dimana struktur itu dibutuhkan dalam mengeruk radikal bebas. Eksistensi dari komposisi di dalam ekstrak sebagai antioksidan dapat mengeruk dari radikal bebas dan mencegah formasi dari radikal bebas, jadi itu merupakan proses dari peroksida lipid yang dapat lebih ditekan-tekan. Reaksi mengeruk radikal bebas oleh flavonoid dapat dilihat pada Gambar 4.4.

Mekanisme dari mengeruk radikal bebas oleh flavonoid dapat dijelaskan dari Gambar 4.4. Dasar dari reaksi itu merupakan abstraksi dari atom hidrogen oleh radikal bebas ($R\bullet$) memproduksi radikal flavonoid phenoxil ($FIO\bullet$) dengan sangat sedikit kereaktifannya. Radikal ini dapat lebih menyerang lagi oleh radikal bebas menuju formasi radikal flavonoid phenoxil yang ke dua. Karena flavonoid phenoxil mempunyai ikatan rangkap terkonjugasi dan terjadi delokalisasi elektron untuk menjadi struktur yang lebih stabil dan radikal bebas telah dinetralisasi.



Gambar 4.4 Reaksi penggarukan radikal bebas oleh Flavonoid

Dari hasil penelitian bahwa kontrol Glibenklamid dan kontrol variasi dosis berpengaruh nyata terhadap penurunan kadar glukosa darah. Kemudian dilakukan analisis menggunakan SPSS 16,00 pada Uji One Way ANOVA. Uji One Way ANOVA digunakan untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan kontrol dalam menurunkan kadar glukosa darah.

Tabel 4.4 Data penurunan kadar glukosa darah hari ke-14

Tikus	Kelompok Tikus						
	A	B	C	D	E	F	G
1	5	-25	50	-147	241	59	242
2	-15	-57	2	-4	324	137	414
3	-2	31	-9	-49	367	183	240
4	30	21	87	237	297	248	331
Total	18	-30	130	37	1229	627	1227
Rata-rata	4,5	-7,5	32,5	9,25	307,25	156,75	306,75

Keterangan :

- A: Kontrol nol
- B: Kontrol Negatif
- C: Kontrol Positif
- D: Kontrol Glibenklamid
- E: Kontrol Umbi Binahong Dosis 25 mg/Kg BB
- F: Kontrol Umbi Binahong Dosis 50 mg/Kg BB
- G: Kontrol Umbi Binahong Dosis 75 mg/Kg BB
- + : Terjadi Penurunan Kadar Glukosa Darah
- : Terjadi Kenaikan Kadar Glukosa

Dari data yang terdapat pada Tabel 4.4, didapatkan hasil dari uji *One Way* ANOVA hasil analisis pada Lampiran 9. Didapatkan nilai signifikansi $< \alpha$, Dimana nilai dari α adalah 0,05. Dengan demikian didapatkan bahwa hasil dari uji *One Way* ANOVA adalah menolak H_0 dan menerima H_1 . Dengan demikian terdapat perbedaan penurunan kadar glukosa darah pada masing-masing kontrol.

Dilakukan uji lanjut, untuk mengetahui kontrol yang paling optimal dalam menurunkan kadar glukosa darah dengan menggunakan uji Duncan. Dilakukan uji Duncan merupakan uji lanjutan untuk mengetahui nilai tengah mana saja yang sama dan nilai tengah mana saja yang tidak sama ketika pengujian kehomogenan beberapa nilai tengah memberikan hasil menolak hipotesis nol dan menerima hipotesis alternatif (Sampurna dan Tjokorda, 2013).

Analisis uji lanjutan disajikan pada Lampiran 9. Berdasarkan hasil analisis statistika pada Lampiran 9 menunjukkan bahwa kelompok kontrol Glibenklamid yang dibandingkan dengan kelompok perlakuan kontrol dosis 25 mg/Kg BB ekstrak etanol 70 % umbi binahong, kontrol dosis 50 mg/Kg BB ekstrak etanol 70 % umbi binahong dan kontrol 75 mg/Kg BB ekstrak etanol 70 % umbi binahong. Dari data yang didapat, menunjukkan bahwa kontrol glibenklamid terdapat pada subset 1, sementara kontrol dosis 50 mg/Kg BB terdapat pada subset 2. Untuk dosis 25 mg/Kg BB dan 50 mg/Kg BB terdapat pada subset 3 yang menunjukkan dosis yang paling optimum dalam menurunkan kadar glukosa darah. Karena dosis 25 mg/Kg BB dan 75 mg/Kg BB hanya terdapat pada subset 3. Sehingga dapat dibandingkan antara perlakuan dosis 25 mg/Kg BB dan 75 mg/Kg BB.

Diantara dosis 25 mg/Kg BB dan 75 mg/Kg BB, dosis yang paling optimum dalam menurunkan kadar glukosa darah berdasarkan hasil analisis menggunakan uji Duncan adalah dosis 25 mg/Kg BB. Meskipun dosis 75 mg/Kg BB hanya terdapat pada subset 3, namun dapat diinterpretasikan bahwa dosis 25 mg/Kg BB merupakan dosis yang paling optimum dalam menurunkan kadar glukosa darah karena dengan penggunaan dosis yang lebih sedikit namun memiliki kemampuan yang sama dengan dosis 75 mg/Kg BB.

4.5 Uji Kandungan Golongan Senyawa Aktif dengan Reagen

Uji golongan senyawa aktif (uji fitokimia) merupakan uji kualitatif golongan senyawa aktif pada ekstrak tanaman, dengan tujuan untuk mengetahui senyawa aktif di dalamnya. Prinsipnya adalah reaksi pengujian warna (*spot test*) dan busa dengan suatu pereaksi warna serta pemisahannya (Kristanti *et al.*, 2006).

Pada penelitian ini pengujian golongan senyawa aktif dilakukan pada ekstrak kasar umbi binahong untuk mengetahui golongan senyawa aktif dari ekstrak umbi binahong. Hasil kandungan golongan senyawa aktif ekstrak umbi binahong ditunjukkan pada Tabel 4.5.

Tabel 4.5 Data hasil identifikasi senyawa aktif dengan menggunakan uji reagen

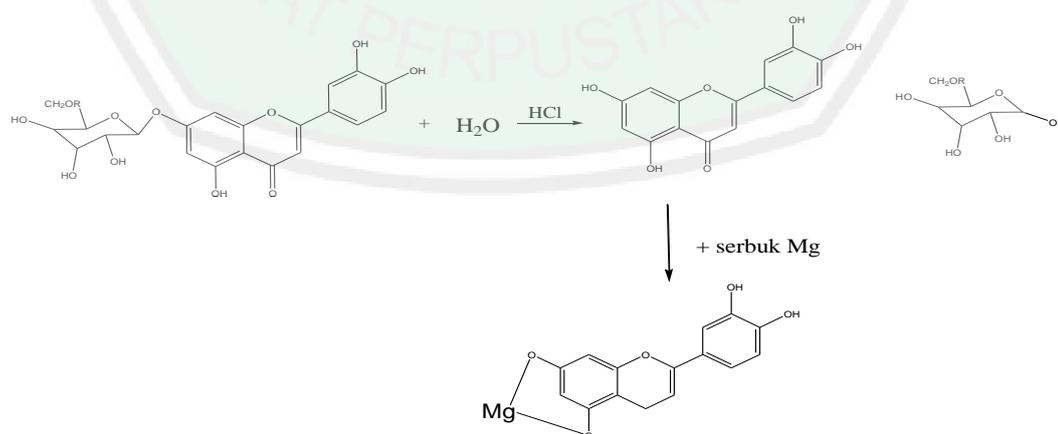
Jenis Golongan		Warna Awal	Warna Akhir	(+/-)
Alkaloid	Mayer	Kuning emas	Endapan Jingga	+
	Dragendroff	Kuning emas	Endapan Kekuning-kuningan	+
Flavonoid		Kuning emas	Jingga	++
Tanin		Kuning emas	Hijau Kehitaman	+
Saponin		Kuning emas	Busa Tetap Stabil	+
Terpenoid		Kuning emas	Cincin Kecoklatan	+

Keterangan +++ = Sangat Banyak
 ++ = Cukup Banyak
 + = Ada

Berdasarkan uji fitokimia, dapat diketahui bahwa ekstrak mengandung alkaloid, flavonoid, saponin, terpenoid dan tanin. Hal ini sesuai dengan penelitian Astuti (tanpa tahun) bahwa dalam ekstrak etanol 70 % umbi binahong terdapat senyawa aktif tersebut.

4.5.1 Flavonoid

Uji flavonoid dilakukan dengan mengambil sedikit sampel, dilarutkan dengan etanol 70 % kemudian ditambahkan metanol 50 % panas, serbuk Mg dan HCl pekat. Penambahan HCl pekat dalam uji flavonoid digunakan untuk menghidrolisis flavonoid menjadi aglikonnya, yaitu dengan menghidrolisis flavonoid menjadi aglikonnya, yaitu dengan menghidrolisis O-glikosil. Glikosida akan tergantungan oleh H^+ dari asam karena sifatnya yang elektrofilik. Glikosida berupa gula yang biasa dijumpai yaitu glukosa, galaktosa dan ramnosa. Reduksi dengan Mg dan HCl pekat ini menghasilkan senyawa kompleks yang berwarna merah atau jingga pada flavonol, flavanon, flavanonol dan xanton (Robinson, 1985).

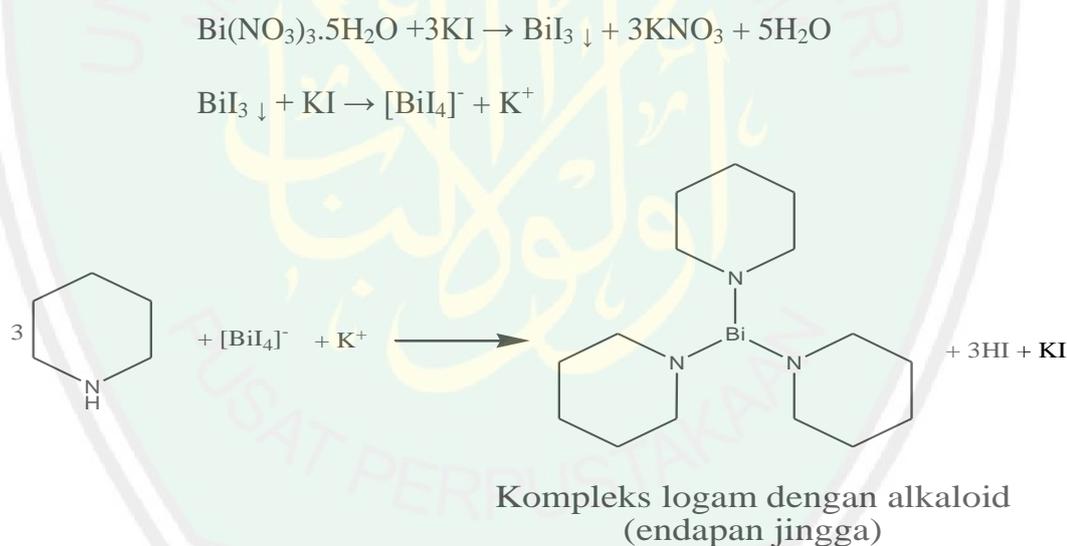


Gambar 4.5 Reaksi Dugaan Flavonoid dengan serbuk Mg dan HCl pekat (Sriwahyuni, 2010).

4.5.2 Alkaloid

Uji adanya senyawa alkaloid dengan cara memasukkan sedikit ekstrak sampel pada tabung reaksi, kemudian ditambahkan HCl. Tujuan penambahan HCl adalah karena alkaloid bersifat basa sehingga biasanya diekstrak dengan pelarut yang bersifat asam (Sriwahyuni, 2010).

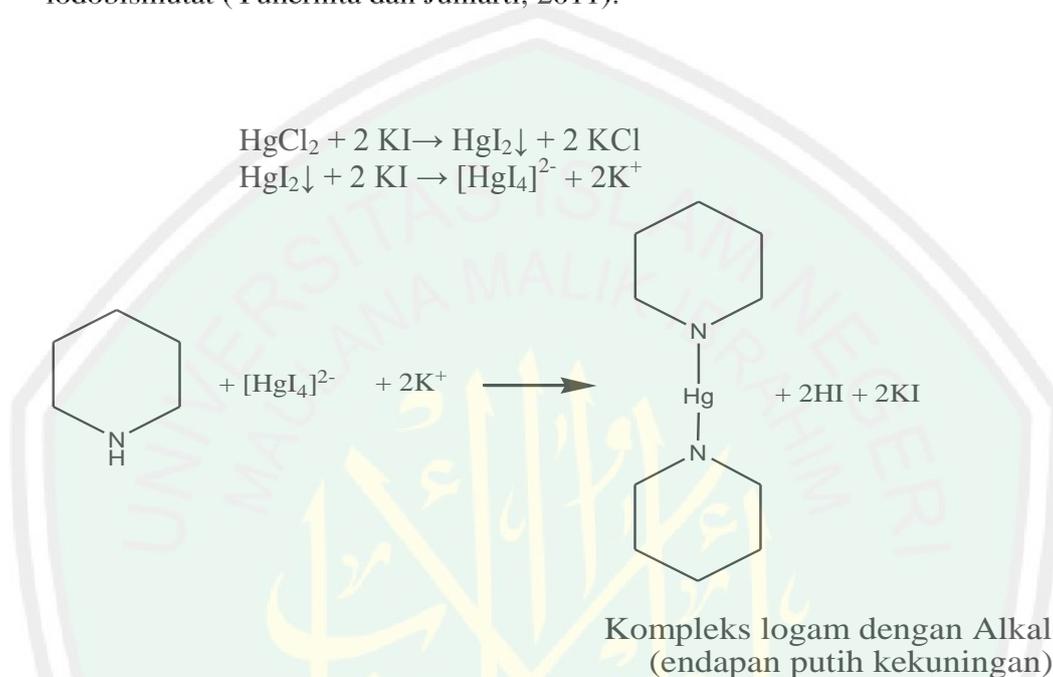
Bukti kualitatif untuk menunjukkan adanya alkaloid dapat diperoleh dengan menggunakan reagen Dragendorf dan Mayer. Reaksi dugaan yang terjadi pada uji alkaloid adalah sebagaimana pada reaksi berikut:



Gambar 4.6 Reaksi dugaan antara alkaloid dengan pereaksi dragendorf (Yuhernita dan Juniarti, 2011).

Dugaan reaksi senyawa alkaloid dengan pereaksi dragendorf akan membentuk garam tetraiodobismutat yang berwarna jingga (Vogel, 1978). Terbentuknya alkaloid tetraiodobismutat berdasarkan kemampuan alkaloid bergabung dengan logam bismut yang memiliki berat atom yang tinggi (Sastrohamidjojo, 1996). Pereaksi dragendorff dapat bereaksi dengan senyawa

alkaloid dalam suasana asam. Alkaloid dalam suasana asam gugus basa nitrogennya mengion berupa kation sehingga dapat bereaksi dengan anion iodobismutat (Yuhernita dan Juniarti, 2011).



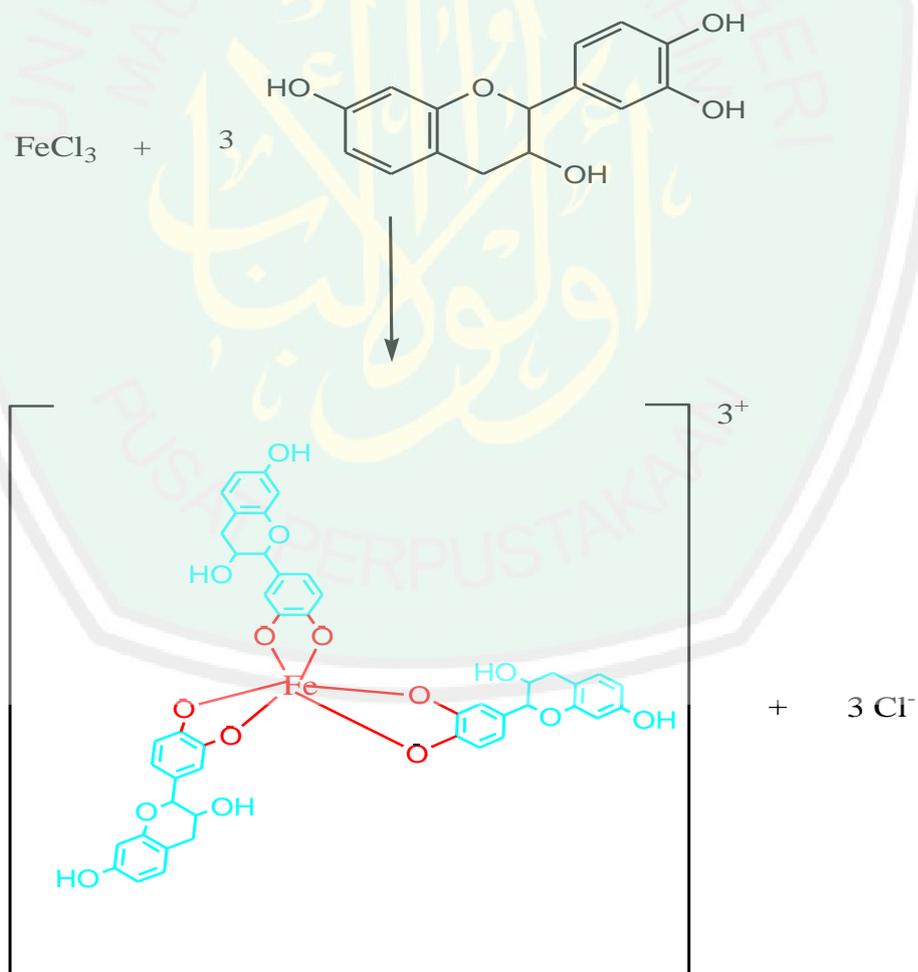
Gambar 4.7 Reaksi dugaan antara alkaloid dengan pereaksi Mayer (Yuhernita dan Juniarti, 2011).

Pereaksi mayer dengan senyawa alkaloid dapat menghasilkan endapan. Pereaksi mayer paling banyak digunakan untuk mendeteksi alkaloid karena pereaksi ini memberikan endapan putih hampir semua alkaloid (Robinson, 1995). Kebanyakan alkaloid bereaksi dengan pereaksi-pereaksi tersebut tanpa membedakan kelompok alkaloid (Sastrohamidjojo, 1996).

4.5.3 Tanin

Uji fitokimia senyawa tanin dalam penelitian ini yaitu dengan menambahkan ekstrak dengan larutan FeCl_3 hasil positifnya akan menunjukkan warna hijau kehitaman, maka ekstrak tersebut mengandung tanin, uji fitokimia

dengan menggunakan FeCl_3 digunakan untuk menentukan apakah suatu bahan atau sampel mengandung gugus fenol. Dugaan adanya fenol ditunjukkan dengan warna hijau kehitaman atau biru tinta, sehingga apabila uji fitokimia dengan FeCl_3 memberikan hasil positif dimungkinkan dalam suatu sampel terdapat suatu senyawa fenol dan dimungkinkan salah satunya adalah tanin merupakan senyawa polifenol. Terbentuknya warna hijau kehitaman atau biru tinta pada ekstrak setelah ditambahkan FeCl_3 karena tanin akan membentuk senyawa kompleks dengan FeCl_3 .



Gambar 4.8 Reaksi dugaan antara senyawa tanin dengan FeCl_3 (Halimah, 2010).

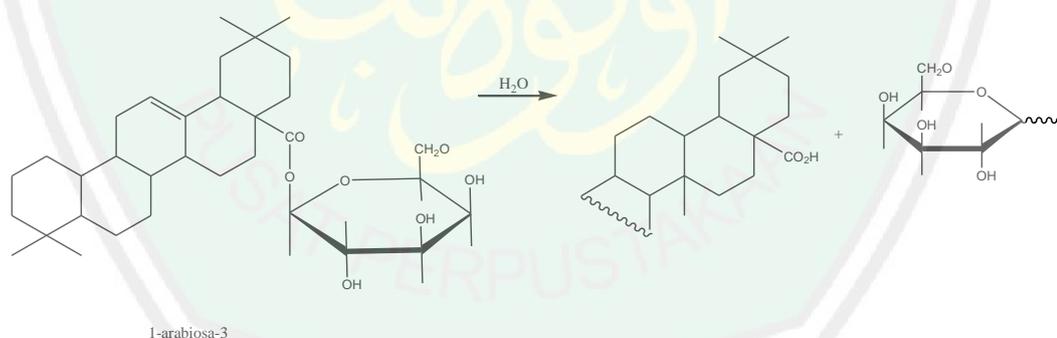
Senyawa kompleks adalah senyawa yang pembentukannya melibatkan pembentukan ikatan kovalen koordinasi antara ion logam atau atom logam dengan atom non logam. Dalam pembentukannya senyawa kompleks, atom atau ion logam disebut sebagai atom pusat, sedangkan atom yang mendonorkan elektronnya ke atom pusat disebut atom donor. Atom donor terdapat pada suatu ion atau molekul netral. Ion atau molekul netral yang memiliki atom-atom donor yang dikoordinasikan pada atom pusat disebut ligan. Suatu molekul dikatakan sebagai ligan jika atomnya memiliki pasangan elektron bebas, memiliki elektron tak berpasangan atau atom yang terikat melalui ikatan π (Effendy, 2007).

Hasil uji fitokimia ekstrak umbi binahong dengan FeCl_3 menghasilkan suatu warna hijau kehitaman, karena reaksi antara tanin dan FeCl_3 membentuk senyawa kompleks. Berdasarkan hal tersebut dapat diduga bahwa di dalam ekstrak umbi binahong mengandung senyawa polifenol yang diduga adalah senyawa tanin. Terbentuknya senyawa kompleks antara tanin dan FeCl_3 karena adanya ion Fe^{3+} sebagai atom pusat dan tanin memiliki atom O yang mempunyai pasangan elektron bebas yang bisa mengkoordinasi ke atom pusat sebagai ligannya. Ion Fe^{3+} pada reaksi di atas mengikat tiga tanin yang memiliki 2 atom donor yaitu atom O pada posisi 4' dan 5' dihidroksi, sehingga ada enam pasangan elektron bebas yang bisa dikoordinasikan ke atom pusat. Atom O pada posisi 4' dan 5' dihidroksi memiliki energi paling rendah dalam pembentukannya senyawa kompleks, sehingga memungkinkan menjadi sebuah ligan. Berdasarkan uji fitokimia pada ekstrak, mengandung senyawa tanin dengan terbentuknya warna hijau kehitaman dengan penambahan FeCl_3 .

4.5.4 Saponin

Pengujian saponin dilakukan dengan uji busa, ekstrak etanol 70 % umbi binahong dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan dengan air. Selanjutnya tabung reaksi dikocok selama 15 menit dan dibiarkan selama 30 menit, terbentuknya busa setinggi 1 cm menunjukkan adanya saponin pada ekstrak etanol 70 % umbi binahong.

Busa yang terbentuk selama pengocokan menunjukkan adanya glikosida yang mempunyai kemampuan membentuk buih dalam air. Glikosida terhidrolisis menjadi glukosa dan senyawa lainnya (aglikon) (Rusdi, 1990). Adanya kombinasi struktur senyawa penyusunnya yaitu rantai sapogenin non-polar dan rantai samping polar yang larut dalam air menyebabkan timbulnya busa (Kristianingsih, 2002). Dugaan reaksi senyawa saponin dapat dilihat pada Gambar 4.9.

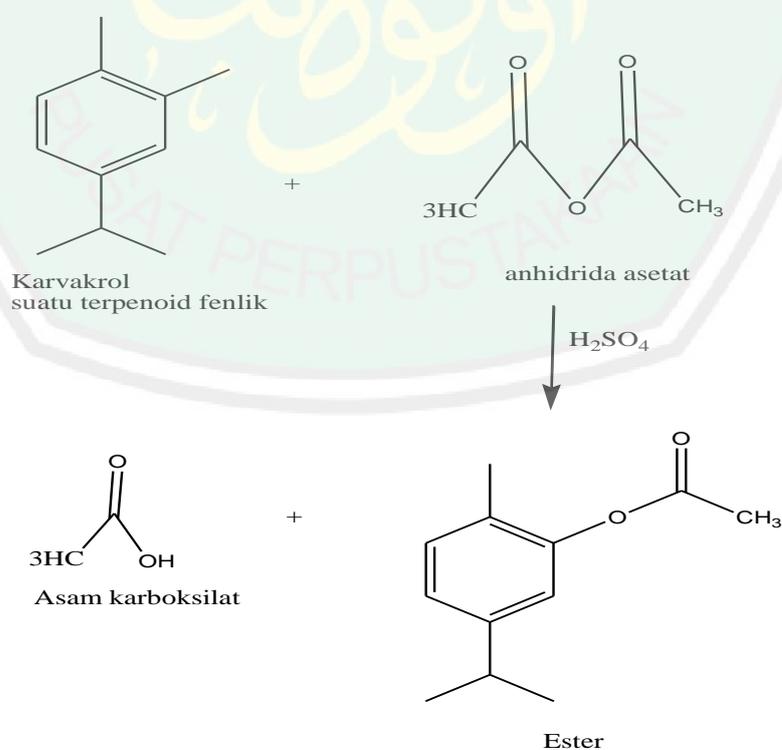


Gambar 4.9 Reaksi dugaan antara senyawa saponin (Kristianingsih, 2002).

Busa tersebut juga ditimbulkan oleh adanya senyawa yang sebagian larut dalam air (hidrofilik) dan senyawa lain yang tidak larut air atau larut dalam pelarut non polar (hidrofobik) sebagai surfaktan yang dapat menurunkan tegangan permukaan (Widyasari, 2008). Ekstrak etanol 70 % umbi binahong menunjukkan busa yang stabil sampai 30 detik.

4.5.5 Terpenoid

Uji fitokimia senyawa terpenoid dilakukan dengan mengambil 0,5 g ekstrak pada tabung reaksi dan dilarutkan dengan pelarutnya, setelah ditambahkan 2 ml kloroform. Senyawa terpenoid yang bersifat nonpolar akan terekstrak baik pada pelarut yang nonpolar seperti kloroform. Kemudian ditambahkan 2 ml asam asetat anhidrat pada tabung reaksi. Penambahan asam asetat anhidrat dilakukan untuk membentuk turunan asetil di dalam kloroform. Ditambahkan 2 mL asam sulfat perlahan melalui dinding tabung reaksi. Jika terbentuk cincin berwarna kecoklatan maka ekstrak tersebut positif mengandung senyawa terpenoid (Harborne, 1987). Dengan penambahan asam kuat senyawa terpenoid akan mengalami dehidrasi dan membentuk garam yang memberikan sejumlah reaksi warna. Dugaan senyawa terpenoid dengan Lieberman Burchard pada Gambar 4.10.



Gambar 4.10 Dugaan reaksi terpenoid fenolik dengan pereaksi Lieberman Burchard

Dari hasil pengujian terhadap ekstrak etanol 70 % umbi binahong menunjukkan adanya senyawa terpenoid dengan terbentuknya cincin kecoklatan setelah ditetesi dengan asam sulfat.

4.6 Uji Fitokimia dengan KLT

Pendugaan senyawa dalam ekstrak umbi binahong telah teruji dengan pengujian fitokimia menggunakan reagen. Pembuktian kandungan senyawa-senyawa tersebut diperkuat dengan adanya identifikasi dengan menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT). KLT merupakan metode pemisahan senyawa kimia dengan menggunakan fase diam dan fase gerak. KLT yang digunakan terbuat dari silika gel dengan ukuran 1×10 cm G60 F₂₅₄ (Merck). Penggunaan bahan silika karena pada umumnya silika digunakan untuk memisahkan asam-amino, fenol, alkaloid, asam lemak, sterol dan terpenoid. Plat KLT silika G60 F₂₅₄ diaktifasi pada suhu 100 °C selama 30 menit untuk menghilangkan air yang terdapat pada plat (Sastrohamidjojo, 2007). KLT analitik ini digunakan untuk mencari eluen terbaik dari beberapa eluen yang baik dalam pemisahan senyawa Flavonoid. Eluen yang baik adalah eluen yang menghasilkan senyawa dalam jumlah yang banyak ditandai dengan munculnya noda. Noda yang terbentuk tidak berekor dan jarak antara noda satu dengan yang lainnya jelas (Harborne, 1987). Penggunaan beberapa eluen diharapkan mampu memisahkan senyawa aktif yang terdapat dalam ekstrak umbi binahong dengan baik. Noda yang dihasilkan selanjutnya dideteksi dengan pereaksi sesuai golongan senyawa,

kemudian diamati di bawah lampu UV. Pereaksi ini digunakan untuk menambah kepekaan deteksi dan menghasilkan perubahan warna yang ada kaitannya dengan struktur senyawa yang bersangkutan. Prinsip pemisahan KLT ini adalah adanya perbedaan sifat fisik dan kimia dari senyawa yaitu kecenderungan dari molekul untuk melarut dalam cairan (kelarutan), kecenderungan molekul untuk menguap dan kecenderungan molekul untuk melekat pada permukaan fase diam (Hendayana, 2006).

4.6.1 Pemisahan Senyawa Flavonoid dengan KLT

Pada penelitian ini KLT dilakukan terhadap ekstrak hasil hidrolisis yang positif mengandung flavonoid. Hasil pemisahan ekstrak flavonoid dengan KLT analitik campuran n-butanol-asam asetat glasial (BAA) dengan komposisi (6:1:2), (4:1:5) dan metanol-kloroform (1:39), (1:9) dan (3:2) disajikan pada Lampiran 12. Sedangkan data penampakan noda dari hasil fasa organik yang dihasilkan KLT analitik berdasarkan berbagai macam komposisi eluen disajikan pada Tabel 4.6

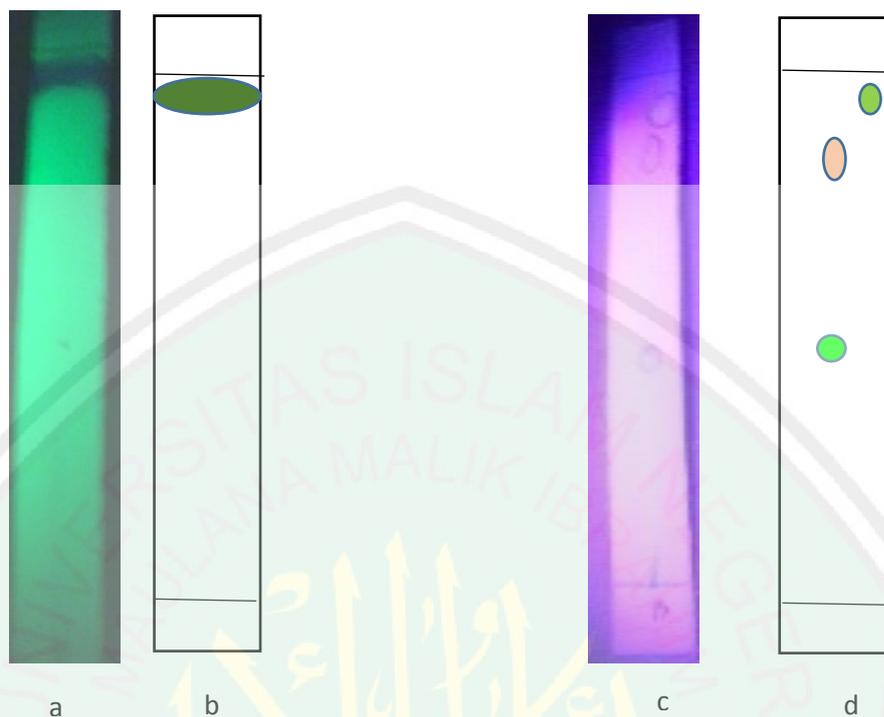
Hasil pemisahan golongan senyawa aktif flavonoid dari ekstrak hasil hidrolisis umbi binahong dengan 5 variasi eluen. Ditunjukkan pada Tabel 4.6.

Tabel 4.6 Data penampakan noda dari fasa organik yang dihasilkan pada KLT analitik berdasarkan berbagai macam komposisi eluen menggunakan lampu UV 254 dan 366 nm

No.	Fase Gerak	Jumlah Noda	Keterangan
1.	n-butanol:asam asetat glasial:air (6:1:2)	2	Terpisah baik
2.	n-butanol:asam asetat glasial:air (4:1:5)	6	Terpisah baik
3.	Methanol: kloroform (1:39)	3	Terpisah baik
4.	Methanol: kloroform (1:9)	2	Tak terpisah baik
5.	Methanol: kloroform (3:2)	8	Tak terpisah baik

Hasil pemisahan KLT dari fasa organik menunjukkan bahwa eluen lapisan atas dari campuran metanol-kloroform (1:19), (1:9) dan (3:2) belum dapat memisahkan komponen-komponen senyawa flavonoid dalam umbi binahong, eluen campuran n-butanol:asam asetat:air (BAA) 6:1:2 mampu memisahkan 2 noda yang terpisah baik.

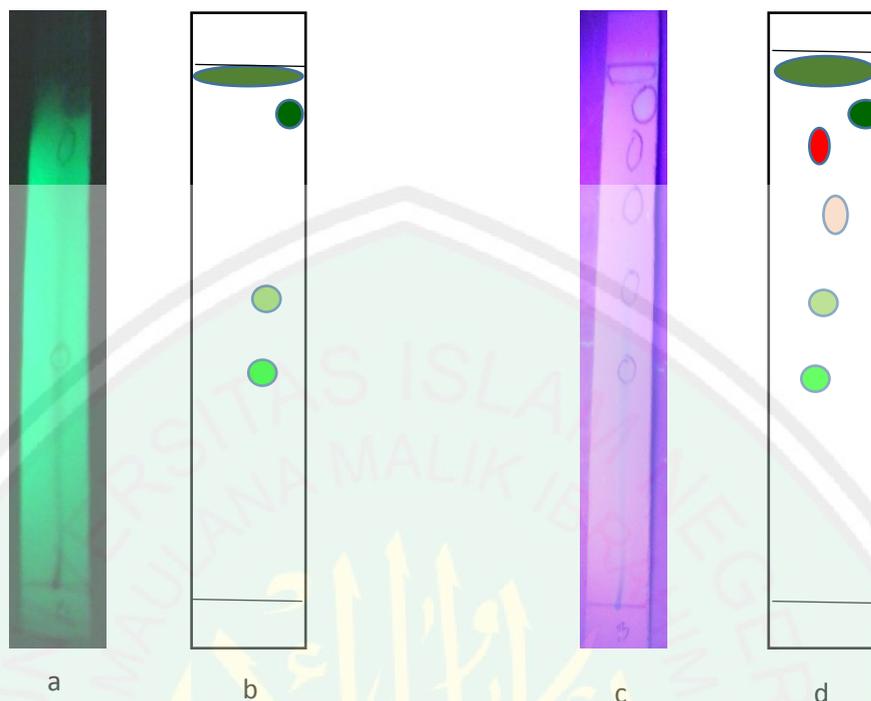
Eluen campuran n-butanol:asam asetat:air (BAA) 4:1:5 mampu memberikan resolusi terbaik, hal ini dapat dilihat dengan adanya noda yang terpisah dengan baik dan jumlah noda sebanyak 6 noda. Pada eluen n-butanol:asam asetat:air (BAA) 4:1:5 mampu memberikan pemisahan terbaik, hal ini dapat dilihat dengan adanya noda yang terpisah dengan baik dan jumlah noda 6 noda. Karena dari komposisinya, eluen tersebut bersifat sangat polar sehingga bisa memisahkan senyawa flavonoid yang bersifat polar. Dengan demikian eluen ini digunakan dalam pemisahan senyawa flavonoid dengan KLT preparatif. Adapun gambar plat hasil KLT analitik eluen terbaik n-butanol:asam asetat:air (BAA) 4:1:5 disajikan pada Gambar 4.3.



Gambar 4.11 a. Foto plat hasil KLTA ekstrak umbi binahong dengan eluen BAA (4:1:5) dengan sinar UV 254 nm sebelum diuapi NH_3 , b. Ilustrasi noda hasil KLTA ekstrak umbi binahong dengan eluen BAA (4:1:5) dengan sinar UV 254 nm sebelum diuapi NH_3 , c. Foto plat hasil KLTA ekstrak umbi binahong dengan eluen BAA (4:1:5) dengan sinar UV 366 nm sebelum diuapi NH_3 , d. Ilustrasi noda hasil KLTA ekstrak umbi binahong dengan eluen BAA (4:1:5) dengan sinar UV 366 nm sebelum diuapi NH_3 .

Tabel 4.7 Nilai Rf dan warna noda hasil KLTA eluen terbaik n-butanol:asam asetat:air (BAA) (4:1:5) dibawah sinar UV 254 nm dan 366 nm sebelum diuapi NH_3

Noda	Nilai Rf	Warna noda	
		254 nm	366 nm
1.	0,38	-	Hijau muda
4.	0,81	-	Pink
5.	0,9	-	Hijau
6.	0.94	Hijau tua	-



Gambar 4.12 a. Foto plat hasil KLTA ekstrak umbi binahong dengan eluen BAA (4:1:5) dengan sinar UV 254 nm setelah diuapi NH_3 , b. Ilustrasi noda hasil KLTA ekstrak umbi binahong dengan eluen BAA (4:1:5) dengan sinar UV 254 nm setelah diuapi NH_3 , c. Foto plat hasil KLTA ekstrak umbi binahong dengan eluen BAA (4:1:5) dengan sinar UV 366 nm setelah diuapi NH_3 , d. Ilustrasi noda hasil KLTA ekstrak umbi binahong dengan eluen BAA (4:1:5) dengan sinar UV 366 nm setelah diuapi NH_3 .

Tabel 4.8 Nilai Rf dan warna noda hasil KLTA eluen terbaik n-butanol:asam asetat:air (BAA) (4:1:5) dibawah sinar UV 254 nm dan 366 nm setelah diuapi NH_3

Noda	Nilai Rf	Warna noda	
		254 nm	366 nm
1.	0,38	Hijau muda	Hijau muda
2.	0,65	hijau	Hijau
3.	0,69	-	Pink
4.	0,81	-	Merah
5.	0.9	Hijau pekat	Hijau pekat
6.	0.94	Hijau tua	Hijau tua

KLT merupakan suatu metode pemisahan berdasarkan perbedaan distribusi fasa. Fasa diam yang digunakan adalah plat silika gel yang bersifat

sangat polar, sedangkan eluen yang digunakan bersifat sangat polar karena mengandung air. Kepolaran fasa gerak dan fasa diam hampir sama, tetapi masih lebih polar fasa gerak sehingga senyawa flavonoid yang dipisahkan terangkut mengikuti aliran eluen, karena senyawa flavonoid bersifat polar.

Nilai R_f (*Retardation Factor*) atau waktu retensi merupakan nilai antara 0-1 yang menunjukkan kecepatan elusi dari suatu senyawa dalam spot noda. Nilai R_f dihitung dengan membagi jarak titik tengah noda dari titik awal dengan jarak tempuh eluen. Nilai R_f berbeda-beda terkait dengan sifat eluen yang digunakan. Noda dengan R_f terkecil menunjukkan adanya senyawaan yang bersifat lebih non polar karena lebih tertahan kuat pada fase diam yang bersifat polar atau memiliki nilai koefisien distribusi senyawa $C_{stationer} < C_{mobile}$. Sedangkan noda yang mempunyai R_f tinggi menunjukkan adanya senyawaan yang lebih bersifat polar dibandingkan noda pada R_f dibawahnya. Noda ini bersifat lebih polar karena lebih terikat kuat pada fase geraknya yang bersifat lebih polar daripada fase diamnya atau memiliki nilai koefisien distribusi senyawa $C_{stationer} > C_{mobile}$.

Dari keenam noda yang ada maka noda yang kedua dengan R_f sebesar 0,65 dan warna noda dengan lampu UV 366 berwarna hijau, noda yang keempat dengan R_f 0,81 dan warna noda pada lampu UV 366 berwarna merah serta noda yang kelima dengan nilai R_f 0,9 dengan warna noda pada UV 366 hijau pekat. Hal ini diperkuat oleh Harborne (1987) bahwa pada kromatogram BAA juga terdapat pemisahan yang lebih jelas antara O-glikosida dan C-glikosida flavon yang tak terhidrolisis (R_f pertengahan) dan aglikon (R_f tinggi) dengan warna hijau, merah dan lembayung.

4.6.2 Pemisahan Senyawa Flavonoid dengan KLTP

Kromatografi Lapis Tipis preparatif merupakan suatu metode pemisahan senyawa dalam jumlah besar (Townshend, 1995). Hasil pemisahan dengan KLT preparatif hampir sama dengan KLT analitik hanya berbeda pada jumlah ekstrak yang ditotolkan pada plat dan ukuran plat KLT yang digunakan. Plat yang digunakan pada plat KLT preparatif adalah plat KLT silika gel G 60 F₂₅₄ dengan ukuran yang lebih besar yaitu 10 cm × 10 cm. Eluen yang digunakan pada KLT preparatif adalah eluen terbaik hasil pemisahan pada KLT analitik yaitu n-butano:asam asetat:air (BAA) dengan perbandingan (4:1:5). Noda yang dihasilkan pada plat KLT preparatif menghasilkan 5 noda. Pada panjang gelombang 254 nm noda yang terlihat hanya 3 noda, sedangkan dengan lampu UV dengan panjang gelombang 366 terlihat 5 noda. Rf, warna dan dugaan senyawa golongan flavonoid yang mungkin dari masing-masing noda di bawah sinar UV 254 nm dan sinar UV 366 nm disajikan pada Tabel 4.10.

Tabel.4.9 Data Rf hasil KLT preparatif dan warna noda dengan eluen campuran n-butanol:asam asetan:air (4:1:5), dibawah sinar UV 254 nm dan dugaan golongan flavonoid.

Isolat	Rf	Warna noda dengan sinar ultraviolet		Jenis senyawa flavonoid yang mungkin
		Tanpa NH ₃	Dengan NH ₃	
1	0,38	-	Hijau muda	-
4	0,65	-	Hijau	a. Flavonol yang mengandung 3-OH bebas dan mempunyai atau tak mempunyai 5-OH bebas (kadang-kadang bersal dari dihidroflavonol)
5	0.9	-	Hijau pekat	a. Flavonol yang mengandung 3-OH bebas dan mempunyai atau tak mempunyai 5-OH bebas

Lanjutan Tabel 4.9

				<p>a. (kadang-kadang berasal dari dihidroflavonol)</p> <p>b. Beberapa 6-atau 8-OH flavon dan flavonol tersulih pada 3-O serta mengandung 5-OH</p> <p>c. Isoflavon, dihidroflavon, biflavonil dan beberapa flavonon yang mengandung 5-OH</p> <p>d. Khalkon yang mengandung 2'- atau 6'-OH tetapi tidak mengandung 2- atau 4-OH bebas</p>
--	--	--	--	---

Sumber : Markham, 1988.

Tabel.4.10 Data Rf hasil KLT preparatif dan warna noda dengan eluen campuran n-butanol:asam asetan:air (4:1:5), dibawah sinar UV 366 nm dan dugaan golongan flavonoid.

Isolat	Rf	Warna noda dengan sinar ultraviolet		Jenis senyawa flavonoid yang mungkin
		Tanpa NH ₃	Dengan NH ₃	
1	0,38	Hijau muda	Hijau muda	-
2	0,65	Pink	Hijau	a. Flavonol yang mengandung 3-OH bebas dan mempunyai atau tak mempunyai 5-OH bebas (kadang-kadang bersal dari dihidroflavonol)
3	0,69	-	Pink	-
4	0,81	-	Merah	a. Sebagian besar antosianidin 3,5-diglikosida b. Flavonol yang mengandung 3-OH bebas dan mempunyai 5-OH bebas (kadang-kadang berasal dari dihidroflavonol)
5	0.9	Hijau	Hijau pekat	a. Flavonol yang mengandung 3-OH bebas dan mempunyai atau tak mempunyai 5-OH bebas (kadang-kadang berasal dari dihidroflavonol) b. Beberapa 6-atau 8-OH flavon dan flavonol tersulih pada 3-O

Lanjutan Tabel 4.10

				<p>c. serta mengandung 5-OH</p> <p>d. Isoflavon, dihidroflavon, biflavonil dan beberapa flavonon yang mengandung 5-OH</p> <p>e. Khalkon yang mengandung 2'- atau 6'-OH tetapi tidak mengandung 2- atau 4-OH bebas</p>
--	--	--	--	---

Sumber : Markham, 1988

Noda-noda yang dihasilkan pada masing-masing panjang gelombang dikerok dan dilarutkan dalam pelarut metanol. Kemudian diidentifikasi menggunakan spektrofotometri UV-Vis.

4.7 Identifikasi Senyawa Flavonoid

4.7.1 Identifikasi dengan Spektrofotometer UV-Vis

Spektrofotomeer UV-vis digunakan untuk menentukan secara deskriptif senyawa flavonoid yang didapat dari pemisahan menggunakan KLT preparatif. Dimana metode ini berguna untuk menganalisis struktur flavonoid dan mengidentifikasi jenis flavonoid dan pola oksigenasinya. Spektrofotometer UV-vis juga memberikan informasi adanya kromofor dan senyawa organik dan membedakan senyawa aromatik atau senyawa ikatan rangkap yang terkonjugasi dari senyawa alifatik rantai jenuh.

Dari panjang gelombang maksimum senyawa flavonoid mempunyai panjang gelombang pada pita I antara 300-550 nm, maka dapat diperkirakan adanya ikatan $\pi \rightarrow \pi^*$, seperti ikatan C=C terkonjugasi (Sastrohamidjojo, 1991).

Sedangkan pada pita II mempunyai panjang gelombang antara 210-285 nm, maka dapat diperkirakan adanya ikatan $\pi \rightarrow \pi^*$, seperti C=C terkonjugasi serta ikatan $n \rightarrow \pi^*$, berupa kromofor tunggal seperti ikatan C=O (Sastrohamidjojo, 1991). Disamping itu, kedudukan gugus hidroksil fenol bebas pada inti flavonoid dapat ditentukan dengan menambahkan pereaksi yaitu pereaksi geser ke dalam larutan cuplikan dan mengganti pergeseran puncak serapan yang terjadi. Dengan demikian pereaksi geser berguna untuk menentukan kedudukan gula atau metil yang terikat pada salah satu gugus hidroksil fenol.

Penentuan spektrum menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan penambahan pereaksi geser NaOH 2 M, AlCl₃ 5 %, AlCl₃, AlCl₃/HCl, NaOAc dan NaOAc/H₃BO₃ disajikan pada Tabel 4.11.

Tabel 4.11 Panjang gelombang maksimum dari noda KLT preparatif menggunakan eluen n-butanol:asam asetat:air (4:1:5) dan penambahan pereaksi geser.

Isolat	Panjang gelombang maksimum (nm) dengan penambahan pereaksi geser					
	MeOH	MeOH + NaOH	MeOH + AlCl ₃	MeOH + AlCl ₃ /HCl	MeOH + NaOAc	MeOH + NaOAc/H ₃ BO ₃
1	-	-	-	-	-	-
2	349,1 277,6	347,4 283,8	318,7 218,1	328,3 277,1	337,9 269,8	- 265,3
3	-	-	-	-	-	-
4	272,0 322,7	280,3 330,0	265,8 318,7	285,0 364,9	264,8 398,1	318,1 376,1

Lanjutan Tabel 4.11

5	414,4 365,4	367,1 344,1	415,0 359,8	418,9 324,9	404,2 -
---	----------------	----------------	----------------	----------------	------------

Dari data spektrum di atas didapatkan senyawa flavonoid yang mungkin dari hasil KLT preparatif adalah isolat 2, 4 dan 5, isolat yang lain bukan merupakan senyawa flavonoid karena ketika ditambahkan metanol pada isolat tidak mendapatkan nilai panjang gelombang maksimum ketika diuji menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Sehingga diperkirakan isolat-isolat tersebut merupakan senyawa polifenol yang lain.

Menurut Markham (1988), perbedaan nilai panjang gelombang maksimum antara data percobaan dengan data literatur disebabkan masih adanya metilasi atau glikolisasi (terutama 3, 5, 7 dan 4'-hidroksil) yang mengakibatkan pergeseran panjang gelombang yang lebih rendah. Bentuk spektra dari spektrofotometer UV-Vis dengan beberapa pergeseran dapat dilihat pada Lampiran 10.

4.7.2 Penentuan Struktur Senyawa Flavonoid

4.7.2.1 Penentuan Struktur Senyawa Flavonoid dari Isolat 2

Tabel 4.12 Interpretasi perubahan panjang gelombang dari Isolat 2 dengan penambahan pereaksi geser

Isolat 2	Panjang Gelombang λ maks (nm)		Panjang Gelombang λ maks (nm)		Dugaan substitusi
	Pita I	Pita II	Pita I	Pita II	
Metanol	349,1	277,6	-	-	
Metanol + NaOH	347,4	283,8	-1,7	+6,2	3,4'-OH, o-diOH pada cincin A; pada cincin B; 3-OH yang berdampingan
Metanol + AlCl ₃	318,7	268,1	-30,3	-9,5	Dugaan o-diOH pada cincin A
Metanol + AlCl ₃ + HCl	328,3	277,1	-20,7	+0,1	Dugaan o-diOH pada cincin A
Metanol + NaOAc	337,9	269,8	-11,2	-7,2	Gugus yang peka terhadap basa misal 6,7 atau 7,8 atau 3,4'-diOH
Metanol + NaOAc + H ₃ BO ₃	-	265,3	-	11,7	o-diOH pada cincin A (6,7 atau 7,8)

Keterangan : (+) pergeseran panjang gelombang yang lebih panjang
 (-) pergeseran panjang gelombang yang lebih pendek
 ■ Panjang gelombang yang mengalami pergeseran dengan dugaan flavonoid

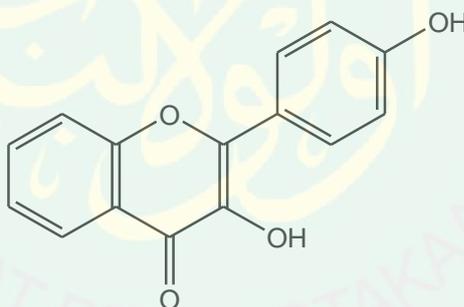
Penambahan NaOH menyebabkan pergeseran panjang gelombang pada pita I sebesar 1,7 nm yang menunjukkan adanya gugus 3,4'-OH, o-diOH pada cincin A; pada cincin B; 3-OH yang berdampingan dari flavon dan flavonol.

Penambahan AlCl₃ menyebabkan pergeseran pada pita II sebesar 9,5 nm yang memungkinkan adanya gugus o-diOH pada cincin A. Sedangkan penambahan AlCl₃/HCl juga menghasilkan pergeseran pada pita II sebesar 0,1 nm yang juga menunjukkan kemungkinan adanya gugus o-diOH pada cincin A dari auron dan khalkon.

Penambahan NaOAc menyebabkan pergeseran panjang gelombang pada pita I sebesar 11,2 nm dan pada pita II sebesar 7,2 nm, hal ini menunjukkan

adanya gugus yang peka terhadap basa, misal 6,7 atau 7,8 atau 3,4'-diOH. Penambahan NaOAc/H₃BO₃ juga menghasilkan pergeseran panjang gelombang pada pita II sebesar 11,7 nm yang juga menunjukkan kemungkinan adanya gugus o-diOH pada cincin A (6,7 atau 7,8).

Berdasarkan data interpretasi perubahan panjang gelombang maksimum menggunakan spektrofotometer UV-vis, senyawa flavonoid yang terkandung dalam isolat 2 diduga termasuk golongan flavonol. Dengan kemungkinan terdapat C-3, C-6, C-7 dan C-4'. Pergeseran panjang gelombang pada isolat 2 hampir sama dengan penelitian Inayah (2011) pada isolat 8, diduga jenis flavonoidnya 3,4'-dihidroksi flavonol.



3,4'-dihidroksi flavonol

Gambar 4.13 Struktur dugaan senyawa flavonoid isolat 2

4.7.2.2 Penentuan Struktur Senyawa Flavonoid dari Isolat 4

Tabel 4.13 Interpretasi perubahan panjang gelombang dari Isolat 4 dengan penambahan pereaksi geser

Isolat 4	Panjang Gelombang λ maks (nm)		Panjang Gelombang λ maks (nm)		Dugaan substitusi
	Pita I	Pita II	Pita I	Pita II	
Metanol	322,7	272	-	-	
Metanol + NaOH	330	280,3	+7,3	+8,5	-
Metanol + AlCl ₃	318,7	265,8	-4	-6,2	Mungkin o-diOH pada cincin A
Metanol + AlCl ₃ + HCl	364,9	285	-42,2	-13	5-OH (isoflavon)
Metanol + NaOAc	398,1	269,8	+75,4	-2,2	Gugus yang peka terhadap basa misal 6,7 atau 7,8 atau 3,4'-diOH
Metanol + NaOAc + H ₃ BO ₃	376,1	318,1	+53,4	+46,1	-

Keterangan : (+) pergeseran panjang gelombang yang lebih panjang
 (-) pergeseran panjang gelombang yang lebih pendek
 ■ Panjang gelombang yang mengalami pergeseran dengan dugaan flavonoid

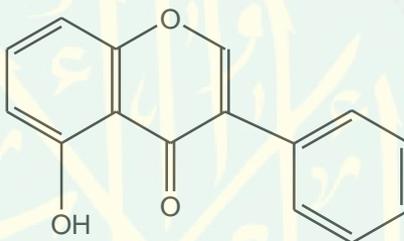
Penambahan NaOH menyebabkan pergeseran pada pita I sebesar 7,3 nm dan pita II sebesar 8,5 nm. Walaupun mengalami pergeseran, tetapi keduanya tidak menunjukkan adanya gugus dari senyawa flavonoid.

Penambahan AlCl₃ menyebabkan pergeseran pada pita I sebesar 4 nm dan pada pita II sebesar 6,2 nm. Hal ini menunjukkan adanya gugus o-diOH pada cincin A dari auron dan khalkon. Sedangkan penambahan AlCl₃/HCl menyebabkan pergeseran pada pita II sebesar 13 nm yang menunjukkan kemungkinan adalah 5-OH isoflavon.

Penambahan NaOAc menyebabkan pergeseran panjang gelombang pada pita II sebesar 2,2 nm. Hal ini menunjukkan gugus yang peka terhadap basa misal

6,7 atau 7,8 atau 3,4'-diOH. Penambahan NAOAc/H₃BO₃ juga menghasilkan pergeseran panjang gelombang pada pita I sebesar 53,4 nm dan pada pita II sebesar 46,1 nm. Walaupun mengalami pergeseran, tetapi keduanya tidak menunjukkan adanya gugus dari senyawa flavonoid.

Berdasarkan data interpretasi perubahan panjang gelombang maksimum isolat 4 dari spektrofometer UV-vis maka senyawa flavonoid yang mungkin dari isolat 4 termasuk golongan isoflavon dengan kemungkinan terdapat gugus hidroksi pada C-5.



5-hidroksi isoflavon

Gambar 4.14 Struktur dugaan senyawa flavonoid isolat 4

4.7.2.3 Penentuan Struktur Senyawa Flavonoid dari Isolat 5

Tabel 4.14 Interpretasi perubahan panjang gelombang dari Isolat 5 dengan penambahan pereaksi geser

Isolat 5	Panjang Gelombang λ maks (nm)			Panjang Gelombang λ maks (nm)		Dugaan substitusi
	Pita I	Pita II	Pita III	Pita I	Pita II	
Metanol	414,4	365,4		-	-	
Metanol + NaOH	367,1	344,1	326,1	-47,3	-21,3	7-OH 3,4'-OH, o-diOH pada cincin A; pada cincin B; 3-OH yang berdampingan
Metanol + AlCl ₃	415	369,8		+0,6	-5,6	Dugaan o-diOH pada cincin A
Metanol + AlCl ₃ + HCl	418,9	324,9		+4,5	-5,8	Dugaan o-diOH pada cincin A
Metanol + NaOAc	404,2	-		-10,2	-	Gugus yang peka terhadap basa misal 6,7 atau 7,8 atau 3,4'-diOH
Metanol + NaOAc + H ₃ BO ₃	407,5	366,5		-11,9	+1,1	o-diOH pada cincin A (6,7 atau 7,8)

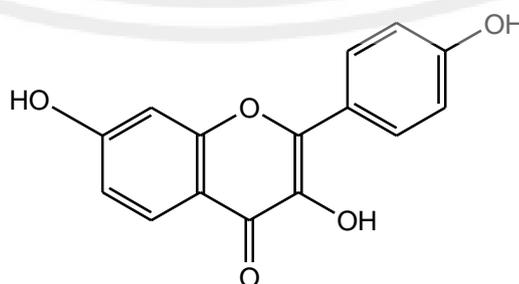
Keterangan : (+) pergeseran panjang gelombang yang lebih panjang
 (-) pergeseran panjang gelombang yang lebih pendek
 ■ Panjang gelombang yang mengalami pergeseran dengan dugaan flavonoid

Penambahan NaOH menyebabkan pergeseran panjang gelombang pada pita I sebesar 47,3 nm dan pada pita II sebesar 21,3 nm yang menunjukkan adanya 3,4'-OH, o-diOH pada cincin A; pada cincin B; 3-OH yang berdampingan dari flavon dan flavonol. Selain itu penambahan NaOH juga menyebabkan munculnya pita baru pada panjang gelombang 326,1 nm yang menunjukkan adanya 7-OH flavon dan flavonol.

Penambahan AlCl_3 menyebabkan pergeseran panjang gelombang pada pita II sebesar 5,6 nm yang memungkinkan adanya gugus o-diOH pada cincin A. Sedangkan penambahan AlCl_3/HCl juga menghasilkan pergeseran panjang gelombang pada pita II sebesar 5,8 nm yang memungkinkan adanya gugus o-diOH pada cincin A dari auron dan khalkon.

Penambahan NaOAc menyebabkan pergeseran panjang gelombang pada pita I sebesar 10,2 nm, hal ini menunjukkan adanya gugus yang peka terhadap basa, misal 6,7 atau 7,8 atau 3,4'-diOH. Penambahan NaOAc/ H_3BO_3 juga menghasilkan pergeseran panjang gelombang pada pita I sebesar 11,9 nm yang menunjukkan adanya gugus o-diOH pada cincin A (6,7 atau 7,8).

Berdasarkan data interpretasi perubahan panjang gelombang maksimum isolat 5 dari spektrofotometer UV-vis maka senyawa flavonoid yang mungkin dari isolat 5 termasuk golongan flavonol dengan kemungkinan terdapat gugus hidroksi pada C-3, C-6, C-7 dan C-4'. Pergeseran panjang gelombang pada isolat 5 hampir sama dengan penelitian Arishandy (2010) pada isolat 8, di duga jenis flavonoidnya 3,7,4'-butahidroksi flavonol.



3,7,4'-trihidroksi flavonol

Gambar 4.15 Struktur dugaan senyawa flavonoid dalam isolat 5.

4.8 Pemanfaatan Umbi Binahong dalam Perspektif Agama Islam

Penelitian ini mengkaji tentang jenis senyawa kimia yang terkandung dalam umbi binahong sebagai antidiabetes. Al Quran telah mengabarkan kepada kita tentang fakta-fakta ilmiah yang kelak ditemukan dan dibuktikan oleh eksperimen sains umat manusia. Karena al Quran merupakan landasan dalam memahami kekuasaan Allah SWT di alam ini, sebagaimana umbi binahong yang merupakan bagian dari kekuasaanNya.

Allah SWT menumbuhkan tumbuh-tumbuhan yang indah, hijau dan banyak memberi manfaat serta kenikmatan kepada manusia. Banyak ayat al Quran yang mengajak manusia untuk berfikir dan menyelidiki tumbuh-tumbuhan agar mendapat manfaat yang lebih banyak, Allah SWT berfirman dalam surat asy syu'araa ayat 80:

وَإِذَا مَرِضْتُ فَهُوَ يَشْفِينِ ﴿٨٠﴾

“Dan apabila aku sakit, Dialah yang menyembuhkan Aku” (QS. asy Syu’araa:80).

Firman Allah SWT dalam surat asy syu’araa ayat 80 tersebut menunjukkan bahwa sesungguhnya kesehatan merupakan suatu nikmat besar yang Allah SWT berikan kepada manusia, akan tetapi kadang nikmat tersebut kurang disyukuri. Sakit merupakan musibah dan ujian yang ditetapkan oleh Allah SWT. Segala penyakit yang diberikan oleh Allah SWT tentunya sudah tersedia obat yang tentunya sudah disediakan oleh-Nya. Melalui ayat ini Allah SWT menganjurkan umat-Nya untuk berserah diri apabila timbul suatu penyakit dengan tetap berusaha. Salah satu usaha tersebut adalah mencari obat dari alam yang

berasal dari tanaman dan meneliti kegunaannya. Tanaman merupakan salah satu makhluk Allah yang dapat dimanfaatkan oleh manusia jika manusia itu berfikir.

Ayat di atas juga dipertegas dengan Firman Allah SWT dalam al Quran surat Luqman ayat 10:

خَلَقَ السَّمَوَاتِ بِغَيْرِ عَمَدٍ تَرَوْنَهَا وَالْأَرْضِ رَوَاسِيَ أَنْ تَمِيدَ بِكُمْ وَبَثَّ فِيهَا مِنْ كُلِّ دَابَّةٍ وَأَنْزَلْنَا مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ ﴿١٠﴾

“Dia menciptakan langit tanpa tiang yang kamu melihatnya dan Dia meletakkan gunung-gunung (di permukaan) bumi supaya bumi itu tidak menggoyangkan kamu; dan memperkembang biakkan padanya segala macam jenis binatang dan Kami turunkan air hujan dari langit, lalu Kami tumbuhkan padanya segala macam tumbuh-tumbuhan yang baik” (QS. Luqman: 10).

Kata *كريم* yang terdapat dalam surat Luqman ayat 10 tersebut digunakan untuk menyifati segala sesuatu yang baik, sesuai obyeknya. Rizqi yang kariim adalah yang banyak, halal dan bermanfaat. Pasangan tumbuhan yang kariim adalah yang tumbuh subur dan menghasilkan apa yang diharapkan penanamannya (Shihab, 2002). Salah satu hasil yang diharapkan dari tanaman adalah pemanfaatannya yang dapat digunakan sebagai obat. Sebagaimana dalam penelitian ini yang menggunakan tanaman binahong (umbi binahong) sebagai subjek penelitian untuk mencari potensi pemanfaatannya sebagai obat.

Untuk mengkajinya lebih lanjut perlu adanya penggolongan suatu materi agar lebih mudah untuk mendalaminya, kerana materi di alam semesta ini begitu beragam, baik jumlah maupun jenisnya. Dari penggolongan materi tersebut akan

dikaji adalah senyawa, yang merupakan kelompok materi zat tunggal. Senyawa merupakan suatu zat yang dibentuk oleh dua atau lebih unsur dengan perbandingan tetap yang menentukan susunannya. Sebagai contoh, air merupakan senyawa yang mengandung hidrogen dan oksigen dengan perbandingan dua terhadap satu. Senyawa dibentuk dan diuraikan oleh reaksi kimia. Adapun firman Allah SWT tersebut tersirat dalam QS. al Qamar ayat 49:

إِنَّا كُلُّ شَيْءٍ خَلَقْنَاهُ بِقَدَرٍ ﴿٤٩﴾

Artinya: “*Sesungguhnya kami menciptakan segala sesuatu menurut ukuran*” (QS. al Qamar: 49).

Dalam proses pembentukannya, perbandingan massa unsur-unsur dalam senyawa selalu tetap sekalipun dibentuk dengan cara yang berbeda. Jadi untuk membentuk senyawa, perbandingan massa unsur-unsur penyusunnya tidak boleh sembarangan, sebab jika perbandingannya tidak sesuai maka ada kemungkinan bisa terbentuk senyawa lain, atau terbentuk senyawa yang dimaksud, tetapi ada unsur penyusunannya yang tersisa.

BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

1. Terdapat pengaruh terapi ekstrak etanol 70 % umbi binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) terhadap penurunan kadar glukosa darah. Berdasarkan uji One Way Anova menunjukkan bahwa penurunan kadar glukosa masing-masing kelompok perlakuan berbeda nyata. Berdasarkan hasil uji duncan didapatkan bahwa kontrol dosis umbi binahong 25 mg/Kg BB merupakan dosis yang paling optimum dalam menurunkan kadar glukosa darah dengan rata-rata penurunan kadar glukosanya adalah 307,25 mg/dL.
2. Jenis senyawa flavonoid yang terdapat dalam umbi binahong adalah senyawa flavonol dan isoflavon.

5.2 Saran

1. Pemberian dosis di bawah 25 mg/Kg BB untuk mengetahui pemberian dosis optimum ekstrak etanol 70 % umbi binahong dalam menurunkan kadar glukosa darah tikus induksi aloksan.
2. Pemberian ekstrak flavonoid untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak flavonoid terhadap penurunan kadar glukosa darah
3. Pemisahan senyawa aktif ekstrak umbi binahong dan isolasi senyawa aktif penurunan kadar glukosa darah diidentifikasi selanjutnya dengan menggunakan spektroskopi NMR dan GC-MS.

DAFTAR PUSTAKA

- Achmad, S.A. 1986. *Kimia Organik Bahan Alam*. Buku Materi Pokok, modul 4-6. Jakarta: Universitas Terbuka.
- Al-farran. A.b.M,. 2007. *Menyalami Kedalaman Kandungan Al-qur'an Tafsir Imam Syafi'i*. Jakarta: Almahira.
- Anonim^{1,2}. 2013. <http://www.plantamor.com>. Diakses 28 Agustus 2013.
- Ansel, C.H. 2005. Pengantar bentuk sediaan farmasi. UI Press.
- Arishandy, D.N.A.T., Hayati., E.K dan Fasya. A.G. 2010. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid Daun Sirih (*Piper betle L. var Rubrum*). *Skripsi Tidak Diterbitkan*. Malang: Jurusan Kimia Saintek UIN Malang.
- Astuti, A.D. 2012. Efek Penurunan Kadar Glukosa Darah Dari Ekstrak Etanol Daun Alpukat (*Persea americana Mill*) Pada Tikus Putih Jantan yang Dibebani Glukosa. *Skripsi Tidak Diterbitkan*. Depok: Jurusan Farmasi MIPA Universitas Indonesia.
- Astuti, S. Tanpa Tahun. Determination of Saponin Compound from *Anredera cordifolia* (Ten) Steenis Plant (Binahong) to Potential Treatment for Several Diseases. *Jurnal Kimia*. Vol 3 no 4.
- Aulanni'am, Anna, R dan Nur, L.R. 2012. The Potency of *Sargassum Duplicatum* Bory Extract on Inflammatory Bowel Disease Therapy in *Rattus norvegicus*. *Journal of Life Sciences* 6 (144-154).
- Ballenger, L. 2002. *The Diversity Web*. The University of Michigan. [http://animaldiversity.ummz.umich.edu/accounts/rattus/r._norvegicus\\$ narrative.html](http://animaldiversity.ummz.umich.edu/accounts/rattus/r._norvegicus$ narrative.html) [06 September 2013].
- Baraja, M. 2008. Uji Toksisitas Ekstrak Daun *Ficus elastic* nois ex lume Terhadap *Artemia salina* Leach dan Profil Kromatografi Lapis Tipis. *Skripsi*. Surakarta: Fakultas Frmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Bernasconi, G. 1995. *Teknologi kimia I*. Penerjemah; Handojo. L, Jakarta: PT.Prandya Paramitha.
- Day, R.A dan Underwood, A.L . 2002. *Analisis Kimia Kuantitatif*. Jakarta: Erlangga.
- Diniyah, N. 2005. Ekstraksi dan Uji Stabilitas Antosianin Kulit Terung Jepang (*Solanum molangena L.*) Kajian Terung dan Konsentrasi HCl dalm Etanol.

- Skripsi*. Tidak Diterbitkan. Malang: Fakultas Teknologi Pertanian Unibraw.
- Dor. 2005. *Adult Pancreatic β are Performed by Cell Duplication Rather Than stem Cell diferentiation*. London: Clin Chem.
- Effendy. 2007. *Perspektif Baru Kimia Koordinasi*. Malang: Bayu Media Publishing.
- Fattah, A.b.A.b.A,. 2010. *Shahih Thibbun Nabawi Panduan dan Metode Pengobatan Nabi SAW*. Jakarta: Pustaka Imam Ahmad.
- Felicia. 2009. Efek Neuroterapi Ekstrak Akar *Acalypha indica* L. Terhadap Katak Bufo Dosis 20 mg dan 25 mg. Skripsi diterbitkan. Jakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Fessenden and Fessenden. 1989. *Kimia Organik Edisi Ketiga Jilid 1*. Jakarta: Erlangga.
- Filipponi P, Gregorio F, Cristallini S, Ferrandina C, Nicoletti I, Santeusanio F. Selective impairment of pancreatic A cell suppression by glucose during acute alloxan – induced insulinopenia: in vitro study on isolated perfused rat pancreas. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3522213> (Internet). 2008. (Diakses 20 Oktober 2013).
- Geissman, T.A dan Crout, D.H.G. 1969. *Organic Chemistry of Secondary Plant Metabolisme*. California: Freeman, Cooper and Company.
- Guenther, E.1987. *Minyak Atsiri*. Jakarta: penerbit UI.
- Guenther, E.2006. *Minyak Atsiri*. Jakarta: penerbit UI.
- Halimah, N. 2010. Uji Fitokimia dan Uji Toksisitas Ekstrak Tanaman Anting-Anting (*Acalypha indica* Linn) Terhadap Larva Udang (*Artemia salina* Leach). *Skripsi*. Tidak Diterbitkan. Malang: Jurusan Kimia Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Harborne, J.B. 1987. *Metode Fitokimia Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Terjemahan Kosasih padmawinata dan Iwang Soediro. Bandung: Penerbit ITB.
- Harborne, J.B. 1994. *Metode Fitokimia Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Terjemahan Kosasih padmawinata dan Iwang Soediro. Bandung: Penerbit ITB.
- Harjadi, W. 1993. *Ilmu Kimia Analitik Dasar*. Jakarta: Gramedia.

- Hendayana, S. 2006. *Kimia Pemisahan Metode Kromatografi dan Elektroforesis Modern*. Bandung: PT Remaja Rosdakarya.
- Inayah, F. 2011. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid Dari Ekstrak Metanol Tanaman Anting-Anting (*Acalypha indica* Linn.). *Skripsi*. Tidak Diterbitkan: Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Indrayani, L., Soetjipto, H dan Sihasale, L. 2006. Skrining Fitokimia dan Uji Toksisitas Ekstrak daun Pecut Kuda (*Stachytarpheta jamaicensis* L. Vahl) Terhadap Larva Udang *Artemia salina* Leach. *Jurnal fakultas sains dan Matematika*. Salatiga: Universitas Kristen Satya Wacana.
- Jati, S.H. 2008. Efek Antioksidan Ekstrak etanol 70 % Daun Salam (*syzygium polyanthum* (weight.) Walp.) Pada Hati tikus Putih Jantan Galur wistar yang Diinduksi Karbon Tetraklorida (ccl4). *Skripsi*. Tidak Diterbitkan. Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Jauhari, T. 1984. *Qur'an dan Ilmu Pengetahuan Modern*. Surabaya: Al-Ikhlash.
- Kaur, N and Murphy, J.B. 2012. Enhanced Isoflavone Biosintesis in transgenic Cowpea (*vigna unguiculata* L) Callus. Urbana-Campaign, USA: University of Illinois Department of Crop Sciences. *Academy Journal-Plant Mol Biol Biothechnol* 2012 3(1):1-8.
- Khopkar, S.M. 2008. *Konsep Dasar Kimia Analitik*. Jakarta: UI Press.
- Kumala, L. D. 2007. Kajian Ekstrak Umbi Gadung (*Dioscorea hispida*), Rerak (*Sapindus rasak*) dan Biji Sirsak (*Annona miricata* L.) sebagai Bahan Pengawet Alami Kau. *Skripsi*. Bandung: Departemen Hasil Hutan Fakultas Kehutanan Institut Pertanian Bogor.
- Krisnatuti, D. Mahendra dan Tobing, Ade. 2010. *Care Your Self Diabetes Mellitus*. Jakarta: Penebar Plus.
- Kristianingsih. 2002. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Triterpenoid dari Akar Tanaman Kedondong Laut (*Polyscias frutcosa*). *Skripsi*. Tidak Diterbitkan. Malang: Jurusan Kimia FMIPA Universitas Brawijaya.
- Kristanti, A.N., Aminah, N.S., Tanjung, B. 2008. *Buku Ajar Fitokimia*. Surabaya: Universitas Airlangga.
- Lenzen S. The mechanism of alloxan and streptozotocin induced diabetes
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18087688?ordinalpos=1&itool=tre>

zSystem2.PEntrez.Pubmed.Pubmed_ResultsPanel.Pubmed_DiscoveryPanel.Pubmed_Discovery_RA&linkpos=4&log\$=relatedreviews&logdbfrom=pubmed. 2008. Internet [diakses 2012 Oktober 20].

Lidnilla, A.G., 2013. Uji Aktivitas Ekstrak Etanol 70 % Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) Terhadap Penurunan Kadar Asam Urat Dalam Tikus Putih Jantan yang Diinduksi dengan Kafeina. *Skripsi*. Tidak Diterbitkan. Jakarta: UIN Syarif Hidayatullah Jakarta Jurusan Farmasi.

Linder, M. 1992. *Biokimia Nutrisi dan Metabolism*. Jakarta: UI Press.

Lukiati, Aulanni'an dan Darmanto. 2012. Profil Distribusi INOS dan Kadar Pankreas Tikus Diabetes Mellitus Hasil Induksi MLD-STZ Pasca Pemberian Ekstrak Etanol Temugiring. *Jurnal Kimia*. Vol 6 N0. 2.

Malole, M.B.M., dan Pramono, CS. 1989. *Penggunaan Hean-Hewan Percobaan Laboratorium*. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan. Direktorat Jendral Pendidikan dan Kebudayaan. Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi Pusat Antar Universitas Bioteknologi. Institut Pertanian Bogor, Bogor.

Manoi, F. 2009. Binahong (*Anredera cordifolia*) (Ten) Steenis Sebagai Obat. *Jurnal Warta Penelitian Dan Pengembangan Tanaman Industri. Jurnal Kimia*. Volume 15 Nomor 1:3.

Markham, K.R. 1988. *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*. Terjemahan Kosasih Padmawinata. Bandung: Penerbit ITB.

Maulana, M. 2008. *Mengenal Diabetes Melitus: Panduan Praktis Menangani Kencing Manis*. Jogjakarta: Katahati.

Maust, M. 2002. Introduced Species Summary Project Norway Rat (*Rattus norvegicus*). http://www.columbia.edu/itc/cerc/danoffburg/invasion_bio/inv_spp_summ/Rattus_norvegicus.html. [06 September 2013].

Mus. 2008. *Informasi Spesies Binahong Anredera cordifolia (Ten.) Steenis*. <http://www.plantamor.com/spcdetail.php?recid=1387>. [20 Mei 2013].

Myers, P., dan Amirtage, D. 2004. "Rattus norvegicus" Animal Diversity Web. http://animaldiversity.ummz.umich.edu/site/accounts/information/Rattus_norvegicus.html. [06 September 2013].

Puspita, M.D.A. 2009. Pengoptimuman Fase Gerak KLT Menggunakan Desain Campuran untuk Pemisahan Komponen Ekstrak Mniran (*Phylantus ninuri*). *Skripsi*. Bogor: Departemen Kmi Fakultas MIPA IPB.

- Rachmawati, L., Enny dan Dewi. 2012. Isolasi, Identifikasi dan Uji Aktivitas Antioksidan Senyawa Flavonoid Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten). Steenis). *Karya ilmiah*. Semarang: Universitas Diponegoro Jurusan Kimia.
- Ratimanjari, D. 2011. Pengaruh Pemberian Infusa Herba Sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) Terhadap Glibenklamid Dalam Menurunkan Kadar Glukosa Darah Tikus Jantan yang Di Buat Diabetes. *Skripsi* Tidak Diterbitkan. Depok: Jurusan Farmasi FMIPA Universitas Indonesia.
- Robinson, T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Bandung: ITB Press.
- Rochani, N. 2009. Uji Aktivitas Antijamur Ekstrak Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steenis) Terhadap *Candida albicans* Serta Skrining Fitokimianya. *Skripsi* Tidak Diterbitkan. Surabaya: Fakultas Farmasi UMS Surakarta.
- Rossidy, I. 2008. *Fenomena Flora dan Fauna dala Prespekif Al-Qur'an*. Malang: UIN Press.
- Rusdi. 1990. *Tetumbuhan Sebagai Sumber Bahan Obat*. Padang: Pusat Penelitian Universitas Andalas.
- Saleh, C., Sitorus, S dan Nursanti, R. 2012. Uji Hipoglikemik Ekstrak Etanol Umbi *Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis. *Jurnal Kimia* Volume 11 Nomer 1.
- Sani, Halimah. 2008. Ekstrak Akues *Gynura procumbens* Menurunkan Aras Glukosa Darah dan Meningkatkan Kualiti Sperma tikus Teraruh Diabetes. *Sains Malaysiana* 37 (4): 435-441.
- Saifudin, A., Suparti, F.A dan Da'i, M. 2006. Biotransformasi Kurkumin Melalui Kultur Suspensi Sel Daun *Carharanthus roseus* (L) G. Don Berbunga Merah. Surakarta: Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah. *Jurnal Penelitian Sains dan Teknologi* vol 7 No. 2 2006-92-102.
- Sampurna, I.P dan Tjokorda, S.N. 2013. *Penuntun Praktikum Rancangan Percobaan dengan SPSS*. Badung-Bali: Universitas Udayana Press.
- Sastrohamidjojo. 2002. *Kromatografi*. Yogyakarta: UGM Press.
- Sastrohamidjojo. 1996. *Sintesis Bahan Alam*. Yogyakarta: UGM Press.
- Sastrohamidjojo. 1991. *Spektroskopi*. Yogyakarta: Liberty.

- Shellard, E.J. 1975. *Quantitative Paper and Thin Layer Chromatography*. New York: Academic Press.
- Shibab, Q. 2002. *Tafsir Al-Mishbah Pesan, Kesan dan Keserasian Al-Qur'an vol. 7 dan 10*. Jakarta: Lentera hati.
- Sliper, J.O. 2004. *Albino Rat*. <http://www.grandpacliff.com> [06September 2013].
- Smith JB dan Mangkoewidjojo S. 1987. *The Care, Breeding and Management of Experimental Animals for Research in The Tropics*. Canberra: International Development Program of Australia Universities and Collages (I D P).
- Sriwahyuni, I. 2010. Uji Fitokimia Ekstrak Tanaman Anting-Anting (*Acalypha Indica* Linn) dengan Variasi Pelarut dan Uji Toksisitas Menggunakan *Brine Shrimp* (*Artemia salina* Leach). *Skripsi*. Tidak Diterbitkan. Malang : Jurusan Kimia Universitas Islam Negeri Malang.
- Studiawan, H., dan H.A. Muldja. 2005. Aktivitas Penurun Kadar Glukosa Darah Ekstrak Daun *Eugenia polyanth* pada Mencit yang Diinduksi Aloksan Test Pharmacological Effect of Ethanolic Extract of *Eugenia polyantha* Leaves as for Decreasing Glucose Level Activity on Mice Induced by Alloxan. *Journal of Life Sciences*. Vol. 21, No.2.
- Sudarmaji, Haryno dan Suhardi. 2006. *Prosedur Analisa untuk Bahan Makanan dan Pertanian*. Yogyakarta: Liberty.
- Suharmiati. 2003. *Pengujian Bioaktivitas Anti Diabetes Mellitus Tumbuhan Obat*. Surabaya: Balai Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Pusat Penelitian dan Pengembangan Pelayanan dan Teknologi Kesehatan DEPKES RI.
- Sukandar, Y., Elin, Q., Atun dan Lady, L. 2011. Effect of Methanol Extrack Hearhleaf Madeiravine (*Anredera cordifolia* (TEN.) STEENIS) Leaves on Blood Sugar in Diabetes Mellitus Model Mice. *Journal of Life Sciences*. 1 No.4 Oktober 2011.
- Szkudelski, T. 2008. The mechanisme of alloxan and streptozotosin action in β cells of the rat pancreas. *Diabetes. Journal of Life Sciences*. 50(6):537-546.
- Tapan, E. 2005. *Kesehatan Keluarga Penyakit Degeneratif*. Jakarta: PT Elex Media Komputindo.
- Tjekyan, R.M. 2007. Resiko Penyakit Diabetes Melitus Tipe 2 diKalangan Peminum Kopi di Kotamadya Palembang Tahun 2006-2007. *Makara Kesehatan*. 11(2): 54-61.

- Townshend, A. 1995. *Encyclopedia of Analytical Science*, Vol 2. Academic Press Inc. London, pp. hal: 714-728.
- Tshikalange, T.E. 2005. In Vitro Anti-HIV-1 Properties Of Ethnobotanically Selected South African Plants Used In The Treatment Of Sexually Transmitted Diseases. University Of Pretoria. *Journal Of Ethnopharmacology*. 96, 515-519.
- Vogel, A.L. 1978. *Textbook of Practical Organic Chemistry*. New York: Longman Group.
- Voight, R. 1994. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*. Penerjemah Soendari, N.S. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Watkins D, Cooperstein SJ, Lazarow A. Effect of alloxan on permeability of pancreatic islet tissue in vitro <http://ajplegacy.physiology.org/cgi/content/abstract/207/2/436> . [Internet]. 2008. Diakses 20 Oktober 2013).
- Wibudi, A., Kiranadi, B., Manulu, W., Winarno, A., dan Suyono, S. 2008. The Traditional Plant, andrographis paniculata (Sambiloto), Exhibits Insulin-Releasing Action in vitro. *Jurnal PDII*. Lipi.
- Widyasari, A.R. 2008. Karakterisasi dan Uji Antibakteri Senyawa Kimia Fraksi n-Heksana dari Kulit Batang Pohon Angsret (*Spathoda campanulata* eavv). *Skripsi*. Tidak Diterbitkan. Malang: Jurusan Kimia Fakultas MIPA Universitas Brawijaya.
- Williams dan Willkins. 2010. *Biokimia Kedokteran Dasar*. Jakarta: EGC.
- Wijayakusuma, H. 2008. *Bebas Diabetes Ala Hembing*. Jakarta: Puspa Swara. Anggota IKAPI.
- Winarno, F.G. 2002. *Kimia Pangan dan Gizi*. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama.
- Yuhernita dan Juniarti. 2011. Analisis Senyawa Metabolit Sekunder dari ekstrak Metanol Daun Surian yang Berpotensi Sebagai Antioksidan. *Makara Sains*. Vol 15, No 1.
- Yustina, S.H. 2008. Daya Antibakteria Campuran Ekstrak Etanol Buah Adas (*Foeniculum vulgare*. Mill) Dan Kulit Batang Pulasari (*Alyxia reindwartii* BL). *Skripsi* Tidak Diterbitkan Fakultas Farmasi Universitas Sanata Dharma Yogyakarta.

IDENTIFIKASI FLAVONOID DENGAN PEREAKSI GESR DAN PENGARUH EKSTRAK ETANOL 70 % UMBI BINAHONG (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) TERHADAP KADAR GLUKOSA DARAH TIKUS INDUKSI ALOKSAN

Ferry Pradana¹, Elok Kamilah Hayati², A. Ghanaim Fasya²³, Hafidatul Khasanah.⁴
Program Studi Kimia Fak.SAINTEK Universitas Islam Negeri (UIN) MALIKI Malang
Gedung Sains dan Teknologi UIN MALIKI Malang Lt.2 Jl. Gajayana 50 Malang
Telp./Fax +62341558933
Email : Pradana.Ferry@gmail.com

ABSTRACT

Binahong was extracted using 70 % ethanol as solvent. Obtained concentrated extract furthermore is used for antidiabetic assay to *Rattus Norvegicus* that has been induced by alloxan. The rats than were treated with three doses of binahong tuber ethanol extract: 25, 50 and 75 mg/Kg BW. Data was analyzed by anova to know the different effect of the treatment and than analyzed by Duncan to know the optimum doses to decrease glucose blood levels. Phytochemical assay was performed, the hypothesis about flavonoid content is proved by Analytic Thin Layer Chromatography (ATLC). The best eluen from ATLC was used for Preparative Thin Layer Chromatography (PTLC). The result of PLTV was analyzed using UV Vis Spectrophotometer and shift reagents.

The results showed that each doses of 70 % ethanol extract binahong tuber is able to decrease glucose blood levels. Based on the result of ANOVA analysis, each doses does not give same effect to decrease glucose blood levels. Duncan analysis shows that doses 25 mg/kg BW is optimum dose with average of decrease glucose blood levels is 307,25 mg/dL. The result of phytochemical assay show that 70 % ethanol extract binahong tuber contain flavonoid. ATLC with eluen n-butanol-asetad acid-aquades (4:1:5) result 6 spotted. Based on spectra data, expected flavonoid compound from PTLC was isolat 2, 4 and 5. The expected flavonoid compound are flavonol and isoflavon.

Keyword: Binahong Tuber (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis), Antidiabetic Test, Identification Flavonoid using shift reagent.

ABSTRAK

Penelitian dilakukan dengan ekstraksi sampel menggunakan pelarut etanol 70 %. Ekstrak pekat yang diperoleh dari hasil ekstraksi selanjutnya digunakan untuk uji antidiabetes terhadap tikus *Rattus Norvegicus* yang telah diinduksi dengan aloksan. Kemudian diterapi dengan tiga variasi dosis ekstrak 25 mg/Kg BB, 50 mg/Kg BB dan 75 mg/Kg BB. Data dianalisis dengan uji ANOVA untuk mengetahui perbedaan masing-masing kelompok dan uji Duncan untuk mengetahui dosis yang paling optimum dalam menurunkan kadar glukosa darah. Uji fitokimia dilakukan dengan uji reagen, dugaan adanya flavonoid diperkuat dengan KLTA yang kemudian eluen terbaik dari KLTA digunakan untuk KLTP. Hasil dari KLTP diuji dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis dan diperkuat dengan pereaksi geser.

¹ Mahasiswa Kimia
² Pembimbing
³ Konsultan

Hasil dari penelitian ini menunjukkan bahwa masing-masing dosis ekstrak etanol 70 % umbi binahong mampu menurunkan kadar glukosa darah. Berdasarkan hasil uji ANOVA didapatkan bahwa masing-masing kelompok tidak memiliki penurunan kadar glukosa yang sama dan dari uji Duncan, didapatkan bahwa dosis 25 mg/Kg BB merupakan dosis yang paling optimum dengan rata-rata penurunan kadar glukosanya adalah 307,25 mg/dL. Hasil uji fitokimia menunjukkan adanya flavonoid, sedangkan hasil KLTA dengan eluen n-butanol-asam asetat-air (4:1:5) diperoleh 6 noda. Dari data spektrum diduga senyawa flavonoid yang mungkin dari hasil KLTP adalah isolat 2, 4 dan 5. Diduga jenis flavonoid yang terdapat pada umbi binahong adalah senyawa flavonol dan isoflavon.

Kata Kunci: Umbi Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) steenis), Uji Antidiabetes, Identifikasi Flavonoid Dengan Pereaksi Geser

مستخلص البحث

فردانا ، ف ، 2014 ، التحديد الفلافونويدات مع شريحة والنفوذ الكاشف 70٪ استخراج الإيثانول من درنة بيناهونج (أنريديري كورديفوليا (تين) ستينيس) ضد الجرذ الجلوكوز في الدم تحريض ألوكسان.

المشرفة الرئيسية : إيلوك كاميلة هياتي الماجستير ، المشرف الدينية : أحمد غنام فاشا الماجستير

كلمات البحث: لمبات بيناهونج (أنريديري كورديفوليا (تين) ستينيس) ، اختبار مضاد السكري، تحديد فلافونيدات مع انزلاق كاشف .

النباتات بيناهونج (أنريديري كورديفوليا (تين) ستينيس) هو النباتات الطبية التي يمكن أن يحتمل التغلب أنواع كثيرة من الأمراض. بالامر السهل إلكتروني القرآن الكريم في السورة الشعراً الآية 80 تشير إلى أن الصحة هي في الواقع خدمة كبيرة أن الله أعطى للبشر. هدفت هذه الدراسة إلى تحديد تأثير علاجي من الفلافونويد و 70٪ من الإيثانول المستخلص من الدرنات بيناهونج (أنريديري كورديفوليا (تين) ستينيس) على مستويات السكر في الدم لمرضى السكري من الفئران التي كانت قد يسببها السكري الناجم عن الألوكسان .

وقد أجريت الدراسة مع استخراج العينة باستخدام الإيثانول 70٪. يستخدم مستخلص المركزة تم الحصول عليها من استخراج مزيد من الفئران لاختبار مضاد السكري الجرذ النرويجي الذي تم الناجمة عن ألوكسان. ثم تعامل مع ثلاث جرعات من استخراج الاختلاف من 25 ملغ / كغ من وزن الجسم، و 50 ملغ / كغ من وزن الجسم و 75 ملغ / كغ من وزن الجسم. وقد تم تحليل لتحديد الاختلافات في كل مجموعة واختبار دنكان لتحديد ANOVA البيانات بواسطة الجرعة المثلى في خفض مستويات السكر في الدم. إجراء الاختبار الكيمائي النباتي مع أفضل من KLTA الكواشف اختبار، وجود المزعوم للأكسدة التي يتم بعد ذلك عززت باستخدام القياس الطيفي KLTP اختبار نتائج . KLTP شاطف تستخدم KLTA للأشعة فوق البنفسجية فيس ومعرزة كاشف القص.

PENDAHULUAN

Diabetes mellitus merupakan suatu penyakit metabolisme yang mempunyai karakteristik *hyperglycemia* akibat dari cacat pada sekresi insulin, kerja insulin atau keduanya. *Hyperglycemia* pada diabetes mellitus yang berkepanjangan akan mengakibatkan disfungsi dan kegagalan kerja dari berbagai macam organ terutama mata, ginjal, saraf dan jaringan darah.

Tanaman binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) merupakan tumbuhan menjalar dengan panjang bisa mencapai lima meter. Batangnya lunak, silindris, saling membelit, berwarna merah dan permukaan halus (Manoi, 2009). Kandungan kimia (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) pada penelitian Rachmawati *et al.*, (2012) sebelumnya telah dilaporkan bahwa terdapat kandungan metabolit sekunder jenis flavonoid, alkaloid, tannin, triterpenoid, saponin dan steroid. Dengan menggunakan ekstrak n-heksana, ekstrak etanol dan ekstrak etil asetat daun binahong. Dengan demikian, pada penelitian ini akan dilakukan penelitian pemberian ekstrak etanol umbi binahong sebagai antidiabetes mellitus induksi aloksan dengan menggunakan tiga variasi dosis yaitu 25 mg/Kg BB, 50 mg/Kg BB dan 75 mg/Kg BB.

Berdasarkan penelitian Saleh *et al.*, (2012) ekstrak etanol umbi binahong dapat menurunkan kadar glukosa darah di karenakan terdapatnya senyawa aktif salah satunya adalah flavonoid yang diduga mengembalikan sensitivitas reseptor insulin pada sel. Senyawa flavonoid yang terdapat dalam umbi binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) belum diketahui jenis golongannya secara spesifik. Oleh karena itu perlu dilakukan pengkajian dan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui jenis senyawa flavonoid dengan melakukan isolasi dan identifikasi pada umbi binahong.

Isolasi senyawa flavonoid dari umbi binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 70 %. Pemisahan dan pemurnian komponen-komponen senyawa flavonoid dilakukan dengan kromatografi lapis tipis kualitatif dan

preparatif. Identifikasi senyawa-senyawa flavonoid dilakukan dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis dan diperkuat dengan pereaksi geser.

Sehingga dengan demikian dapat diketahui efektifitas ekstrak etanol 70 % dari umbi binahong sebagai antidiabetes mellitus tipe I yaitu dengan memperoleh nilai kadar glukosa darah dan jenis senyawa flavonoid yang terdapat pada ekstrak etanol 70 % umbi binahong.

PELAKSANAAN PENELITIAN

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium UIN Maulana Malik Ibrahim Malang pada bulan Februari 2014 – Mei 2014.

ALAT DAN BAHAN

Peralatan yang digunakan antara lain: *beaker glass* 50 mL, 100 mL, 500 mL dan 1000 mL, pipet ukur 1 mL, 5 mL dan 10 mL, gelas ukur 25 mL, 100 mL, 500 mL, erlenmeyer 250 mL, 500 mL dan 1000 mL, gelas arloji, corong gelas, labu takar 25 mL, 50 mL, dan 100 mL, bola hisap, spatula, pengaduk gelas, rak kultivasi, *sentrifuge*, oven, desikator, *rotary evaporator vacuum*, kuvet, pipet tetes, aluminium foil, neraca analitik, pemanas air, seperangkat ekstraktor *Soxhlet*, spektrofotometer spektronik 20+, spektrofotometer UV-Vis, *magnetic stirrer*, tabung reaksi, rak tabung reaksi, botol semprot.

Bahan utama yang digunakan adalah umbi binahong, etanol 70 %, aloksan, plat KLT, methanol dan tikus. Bahan-bahan lain yang digunakan adalah aquades, HCl, kloroform (p.a), etanol (p.a), metanol butanol (p.a), asam asetat (p.a), aseton (p.a) dan amoniak.

PROSEDUR PENELITIAN

Preparasi Sampel (Astuti, tanpa tahun)

Umbi binahong ditimbang sebanyak 2500 g kemudian dicuci, selanjutnya dikeringanginkan, kemudian dikeringkan dengan oven pada suhu 60 °C selama 24 jam. Setelah kering umbi binahong diblender sampai berbentuk serbuk. Kemudian serbuk yang diperoleh diukur kadar airnya.

Analisis Kadar Air (Sriwahyuni, 2010)

Analisa kadar air dilakukan dengan menggunakan metode *thermografi* yaitu dengan pemanasan. Analisis ini dilakukan sebanyak 3 kali pengulangan. Cawan yang digunakan dipanaskan dahulu dalam oven pada suhu 100-105 °C sekitar 15 menit untuk menghilangkan kadar airnya, kemudian cawan disimpan dalam desikator sekitar 10 menit. Cawan tersebut selanjutnya ditimbang dan dilakukan perlakuan yang sama sampai diperoleh berat cawan yang konstan. Sampel dipotong kecil-kecil. Sampel ditimbang sebanyak 5 g dan dimasukkan ke dalam cawan penguap yang telah diketahui beratnya, selanjutnya dikeringkan ke dalam oven pada suhu 100-105 °C selama sekitar 1 jam. Sampel kering didinginkan dalam desikator dan ditimbang. Sampel tersebut dipanaskan kembali dalam oven ± 20 menit pada suhu yang sama, didinginkan dalam desikator dan ditimbang kembali. Perlakuan ini diulangi sampai tercapai berat konstan.

3.5.1 Ekstraksi Umbi Binahong

Umbi binahong sebanyak 250 gram dibagi menjadi 5 bagian masing-masing 50 gram kemudian masing-masing diekstraksi dengan menggunakan etanol 70 % 250 mL dengan cara maserasi selama 2 hari (setiap hari dikocok dengan menggunakan *shaker* selama 3 jam) yang sebelumnya dilakukan pengocokan selama 3 jam menggunakan *shaker*, kemudian masing-masing residu yang diperoleh diekstraksi kembali selama 1 hari menggunakan etanol 70 % 250 mL.

Masing-masing ekstrak yang diperoleh dipekatan dengan *rotary evaporator* pada suhu tidak lebih dari 60 °C. Ekstrak pekat yang diperoleh selanjutnya dilakukan uji antidiabetes *in vivo* dalam tubuh tikus dan identifikasi senyawa flavonoid.

3.5.2 Uji Antidiabetes

3.5.2.1 Preparasi Hewan Coba

Penelitian dilakukan dengan tujuh kelompok perlakuan. Jumlah sampel dari tiap kelompok perlakuan dihitung menggunakan rumus Federer (Felicia, 2009).

Berdasarkan perhitungan tersebut maka jumlah sampel minimal yang diperlukan adalah empat sediaan tikus untuk setiap kelompok perlakuan. Sehingga jumlah minimal seluruh sampel yang digunakan adalah 28 ekor tikus. Pada penelitian tikus dipelihara dalam *animal house*

Laboratorium Biologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.

Pembuatan Larutan Aloksan (Ratimanjari, 2011)

Aloksan 1600 mg dilarutkan pada NaCl 0,9 % sampai volumenya 50 mL, selanjutnya divortex hingga homogen. Larutan aloksan stok selanjutnya digunakan untuk injeksi dengan dosis yang volume pengambilannya disesuaikan dengan berat badan tikus. Larutan stok disimpan pada suhu 4 °C.

Pembuatan Tikus Diabetes Mellitus (DM) (Lukiati *et al.*, 2012)

Tikus yang telah diinjeksi dengan aloksan (dosis 32 mg/200 g BB) secara intraperitoneum setiap 4 hari sekali sampai kadar glukosa darahnya di atas 300 mg/dL (tikus sudah menjadi diabetes mellitus), diinkubasi selama 7-14 hari. Selama 7-14 hari tikus dipantau kadar glukosa darahnya menggunakan *glucometer* untuk mengetahui kondisi tikus diabetes.

Pengukuran Kadar Glukosa Darah Menggunakan *Gluco DR* (Astuti, 2012)

Pengukuran kadar glukosa darah dilakukan dengan *Gluco-DR* dimasukkan ke dalam slot yang terdapat pada alat sampai alat menyala dan pada layar terdapat tanda tetesan yang menunjukkan strip siap untuk ditetaskan darah. Bagian dari ekor tikus kemudian di cukur dengan pisau bedah hingga pembuluh darah vena terlihat jelas. Ekor kemudian dibasuh dengan alkohol 70 %, kemudian ditoreh secara melintang dengan pisau bedah hingga terbentuk luka kecil. Darah yang keluar kemudian diaplikasikan pada pisau berwarna kuning di strip. Hasil yang keluar pada layar digital dari glucometer merupakan kadar glukosa darah yang dicari.

Pembuatan Tikus Kontrol Obat dan Kontrol Negatif (Ratimanjari, 2011)

Kelompok kontrol obat diberi glibenklamid dosis 0,9 mg/ 200 g BB. Pembuatan suspensi glibenklamid dengan cara, ditimbang 500 mg CMC-Na kemudian ditaburkan pada aquades panas, lalu diaduk sampai CMC-Na mengembang, lalu ditambahkan 90 mg glibenklamid dan ditambah dengan aquades sampai volumenya 100 mL. Setelah itu, diaduk sampai homogen (1 mL/200 g BB).

Kelompok kontrol pelarut diberi pelarut dengan dosis 1 mL/200 g BB. Pembuatan pelarut dengan cara, ditimbang 350 mg CMC-Na kemudian ditaburkan pada aquades panas, lalu diaduk sampai CMC-Na mengembang, Setelah itu, ditambah dengan aquades sampai volumenya 70 mL.

Terapi Tikus Diabetes dengan Ekstrak Umbi Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis)

Tikus diabetes mellitus tipe I diterapi dengan ekstrak umbi binahong dengan dosis 25 mg/Kg BB, 50 mg/Kg BB dan 75 mg/Kg BB sebanyak 14 kali (14 hari berturut-turut) (Saleh *et al.*, 2012). Untuk sediaan uji dosis 25 mg/Kg BB, ditimbang 500 mg CMC-Na kemudian ditaburkan pada akuades panas, lalu diaduk sampai CMC-Na mengembang, lalu ditambahkan 3150 g ekstrak umbi binahong dan ditambah dengan aquades sampai volumenya 100 ml. Setelah itu, diaduk sampai homogen. Untuk sediaan uji dosis 50 mg/Kg BB, caranya sama seperti tersebut di atas, tetapi ekstraknya sebanyak 6300 mg sementara untuk sediaan uji dosis 75 mg/Kg BB, caranya juga sama seperti tersebut di atas, tetapi ekstraknya sebanyak 9450 mg. Selanjutnya dijadikan sebagai larutan stok. Saat akan menginjeksikan volume yang diambil disesuaikan dengan berat badan tikus diabetes mellitus yang akan diterapi (BB 200 g = 1 mL) (Studiawan dan Muldja, 2005).

Uji Fitokimia dengan Reagen (Indrayani *et al.*, 2006).

Uji fitokimia dengan reagen untuk mengetahui kandungan senyawa aktif dalam ekstrak etanol 70 % tanaman binahong. Uji fitokimia kandungan senyawa aktif dengan uji reagen dari ekstrak pekat etanol 70 % dari umbi binahong dilarutkan dengan sedikit masing-masing pelarutnya. Kemudian dilakukan uji alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, dan terpenoid.

Uji Alkaloid

Sebanyak 500 µL ekstrak umbi binahong konsentrasi 10.000 ppm dimasukkan dalam tabung reaksi, kemudian ditambah 0,5 mL HCl 2 % dan larutan dibagi dalam tiga tabung. Tabung 1 larutan ditambah 0,5 mL larutan asam encer sebagai pembanding, tabung 2 ditambah 2 - 3 tetes reagensia Dragendorff, dan tabung 3 ditambah 2 - 3 tetes reagensia Mayer. Jika tabung 2 terbentuk endapan jingga dan pada tabung 3 terbentuk endapan kekuning-kuningan menunjukkan adanya alkaloid.

Uji Flavonoid

Sebanyak 500 µL ekstrak umbi binahong konsentrasi 10.000 ppm dimasukkan dalam tabung reaksi, kemudian dilarutkan dalam 1 - 2 mL metanol panas 50%. Setelah itu ditambahkan serbuk Mg dan 4 - 5 tetes HCl pekat. Larutan berwarna merah atau jingga yang terbentuk menunjukkan adanya flavonoid.

Uji Tanin

Sebanyak 500 µL ekstrak umbi binahong konsentrasi 10.000 ppm dilarutkan dalam 1 - 2 mL air dan ditambahkan 2 tetes larutan FeCl₃,

timbulnya warna biru kehitaman menunjukkan adanya senyawa tannin galat dan jika warnanya hijau kehitaman menunjukkan adanya senyawa tanin katekol.

Uji Saponin

Sebanyak 500 µL ekstrak umbi binahong konsentrasi 10.000 ppm dimasukkan dalam tabung reaksi dan ditambah 10 mL air sambil dikocok selama 1 menit, apabila menimbulkan busa ditambahkan 2 tetes HCl 1 N, apabila busa yang terbentuk bisa tetap stabil maka ekstrak positif mengandung saponin.

Uji Terpenoid

Sebanyak 500 µL ekstrak umbi binahong konsentrasi 10.000 ppm dimasukkan dalam tabung reaksi, kemudian dilarutkan dalam 0,5 mL kloroform, lalu ditambah dengan 0,5 mL asam asetat anhidrat. Selanjutnya campuran ini ditetesi dengan 1 - 2 mL H₂SO₄ pekat melalui dinding tabung tersebut. Jika hasil yang diperoleh berupa cincin kecoklatan atau violet pada perbatasan dua pelarut menunjukkan adanya terpenoid.

Identifikasi Flavonoid

Pada tahap ini dilakukan pemisahan senyawa flavonoid dengan KLT analitik dan preparatif. KLT analitik yang bertujuan untuk mencari eluen terbaik pemisahan senyawa flavonoid dari ekstrak etanol 70 % umbi binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis), hasil yang diperoleh digunakan sebagai eluen untuk KLT preparatif.

Ekstraksi Flavonoid Dari Ekstrak Pekat Umbi Binahong (Markham, 1998)

Ekstrak kasar sebanyak 8 gram dihidrolisis dengan 16 mL HCl 15 %, kemudian diekstraksi cair-cair dengan pelarut air : kloroform (1:1), ekstraksi dilakukan secara bertahap (3 × 35 mL). Fasa air dan fasa organik yang diperoleh masing-masing dipisahkan. Masing-masing yaitu lapisan atas (fasa air) dan lapisan bawah (fasa organik) yang diduga sebagai ekstrak flavonoid dipekatkan dengan rotary evaporator kemudian ditentukan nilai rendemennya dan dilakukan identifikasi senyawa flavonoid yang terdapat dalam ekstrak dengan KLT.

Pemisahan Senyawa Flavonoid dengan KLT Analitik (Arishandy *et al.*, 2010)

Pemisahan dengan KLT analitik menggunakan plat silika gel 60 F₂₅₄ dengan ukuran 1 × 10 cm. Dalam Markam (1998) disebutkan bahwa pada umumnya eluen yang digunakan untuk memisahkan komponen-komponen dalam bahan alam yang diduga mengandung flavonoid adalah campuran n-butanol - asam asetat glasial - aquades (BAA) dan metanol - kloroform dengan komposisi meliputi BAA (4:1:5), BAA (6:1:2) dan metanol - kloroform (3:2), (1:9) dan (1:39).

Pemisahan Senyawa Flavonoid dengan KLT Preparatif (Arishandy *et al.*, 2010)

Pemisahan dengan KLT preparatif menggunakan plat silika gel 60 F₂₅₄ dengan ukuran 10 × 10 cm. Sebanyak 1000 mg ekstrak flavonoid umbi binahong diencerkan dengan menambahkan 1 mL etanol 70 %, kemudian ditotolkan sepanjang plat pada jarak 1 cm dari garis bawah dan 1 cm dari garis tepi dan jarak satu sama lainnya 1 cm. Selanjutnya dielusi dengan menggunakan pelarut yang memberikan pemisahan yang terbaik hasil KLT analitik. Masing-masing senyawa flavonoid akan membentuk noda yang terpisah berdasarkan harga R_f nya. Kemudian masing-masing noda yang diperoleh dikerok dan dilarutkan dengan metanol.

Identifikasi Senyawa Flavonoid dengan Spektrofotometer UV-Vis (Markham, 1988)

Isolat-isolat diperoleh hasil KLT preparatif, dianalisis dengan spektrofotometer UV-Vis. Masing-masing isolat sebanyak 2 mL, dimasukkan dalam kuvet dan diamati spektrumnya pada panjang gelombang 200-600 nm.

Identifikasi dilanjutkan dengan penambahan pereaksi geser NaOH 2 M, AlCl₃ 5 %, NaOAc, H₃BO₃.

Analisis Data

Analisis data, parameter yang digunakan adalah penurunan kadar glukosa darah puasa dari hari ke-1 sampai hari ke-14 dari semua kelompok. Data yang diperoleh diuji dengan menggunakan uji *OneWay* ANOVA untuk melihat pengaruh penambahan konsentrasi ekstrak etanol 70 % umbi binahong terhadap kadar glukosa darah tikus putih. Selanjutnya dilakukan uji Duncan yang bertujuan untuk mengetahui kelompok mana saja yang mempunyai perbedaan pada taraf nyata 0,05 (Studiawan dan Muldja, 2005).

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Preparasi Sampel

Preparasi sampel yang dilakukan meliputi pencucian, pengeringan dan penyerbukan sampel. Pencucian dilakukan untuk menghilangkan kotoran berupa tanah dan daun yang menempel pada umbi binahong. Pengeringan dilakukan untuk mengurangi kandungan air (Baraja, 2008). Penyerbukan sampel dilakukan dengan cara pemblanderan kemudian disaring menggunakan ayakan 60 mesh. Pengayakan dilakukan untuk menyamakan ukuran serbuk. Pada ukuran tersebut, dinding sel mulai terbuka sehingga memaksimalkan kontak antara pelarut dan sampel pada saat maserasi, menyebabkan ekstrak yang terekstrak maksimal (Kumala, 2007). Pada penelitian ini sampel umbi binahong basah berwarna coklat kehijauan dipreparasi sebanyak 1 kg. Hasil yang diperoleh berupa serbuk umbi

binahong berwarna hijau keruh, berukuran ≥ 60 mesh sebanyak 500 g.

4.2 Analisis Kadar Air

Berdasarkan hasil pengukuran kadar air sampel kering yakni sebesar 5,38 % diketahui bahwa sampel yang dianalisis mempunyai kadar air yang cukup baik untuk dilakukan proses ekstraksi. Menurut Kumala (2007) semakin kecil kadar air suatu sampel, maka semakin mudah pelarut untuk mengekstrak komponen senyawa aktif, sehingga akan diperoleh rendemen yang semakin besar.

4.3 Ekstraksi Komponen Aktif Umbi binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) steenis)

Hasil maserasi ekstrak etanol-air 70 % umbi binahong

Pelarut	Serbuk +pelarut	warna filtrat	Warna ekstrak	Berat ekstrak	Rendemen
Etanol-air (70:30)	500 g + 2250 mL	Coklat tua pekat	Hitam pekat	47,47 g	9,49 %

Ekstrak kasar yang diperoleh digunakan untuk uji antidiabetes dan uji fitokimia menggunakan reagen. Sementara untuk identifikasi flavonoid dilakukan proses hidrolisis terhadap ekstrak kasar. Ekstraksi ke dua adalah dilakukan proses hidrolisis asam menggunakan larutan HCl 15 % pada ekstrak kasar etanol-air (70:30) umbi binahong. Prinsip hidrolisis asam adalah peruraian suatu senyawa dengan cara memutus ikatan glikosida menggunakan air dan katalis asam (Saifudin *et al.*, 2006). Kemudian hidrolisisnya dipisahkan dengan *rotary evaporator vacuum* (Kaur and Murphy, 2012).

Tabel 4.2 Hasil hidrolisis ekstrak etanol-air 70 % umbi binahong

Pelarut	Ekstrak pekat	Warna filtrat	Warna ekstrak pekat	Berat ekstrak	Rendemen (%) (b/b)
Kloroform	8,02 g + 48 mL	Coklat pekat	Hitam	6,01	74,94

4.4 Uji Antidiabetes

Pengujian antidiabetes dalam penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui pengaruh dari ekstrak etanol 70 % umbi binahong

dalam menurunkan kadar glukosa darah dalam berbagai variasi dosis bertingkat yaitu pada 25 mg/Kg BB, 50 mg/Kg BB dan 75 mg/Kg BB (Saleh *et al.*, 2012). Peningkatan kadar glukosa darah pada hewan coba dilakukan dengan menggunakan metode induksi aloksan yaitu induksi hewan percobaan dengan aloksan, karena aloksan bekerja pada pankreas dengan cara merusak sel-sel β langerhans pankreas sehingga menghasilkan sedikit insulin dan terjadi hiperglikemia.

Pengujian antidiabetes ini dilakukan secara *in vivo* terhadap hewan uji coba yakni tikus *Rattus norvegicus* dengan *code etick* 221 KEP UB yang berumur 2 bulan dengan berat badan antara 100-150 g. Penelitian ini menggunakan hewan percobaan berupa tikus putih jantan galur *Rattus norvegicus*, alasan digunakan tikus jantan karena ia memiliki aktivitas hormonal yang lebih stabil dibandingkan tikus betina dan pemilihan penggunaan tikus karena tikus tidak terlalu fotofobil seperti mencit (Sani, 2008).

Rata-rata kadar glukosa darah serta standart deviasi ekstrak etanol 70 % umbi binahong serta standar deviasi (Lampiran 16).

Kelompok Perlakuan (mg/kgBB)	Rerata Kadar Glukosa Darah (mg/dL) \pm Standar Deviasi			
	H-0	H-1	H-7	H-14
Kontrol Nol	124,25 \pm 10,05	116,75 \pm 8,26	89,25 \pm 15,41	112,25 \pm 16,34
Kontrol Negatif	101,5 \pm 15,35	114,25 \pm 40,85	74,25 \pm 11,87	121,75 \pm 2,36
Kontrol Positif	87 \pm 21,56	445 \pm 58,76	303,5 \pm 47,54	430 \pm 61,34
Kontrol Glibenklamid	102 \pm 9,13	346 \pm 61,29	450 \pm 124,96	336,75 \pm 113,83
Umbi Binahong 25 mg/KgBB	107,5 \pm 25,37	483,75 \pm 39,56	382,5 \pm 64,84	175,25 \pm 34,19
Umbi Binahong 50 mg/KgBB	93,25 \pm 24,30	418,25 \pm 69,43	242,75 \pm 137,62	261,5 \pm 114,84
Umbi Binahong 75 mg/KgBB	88 \pm 23,34	443,5 \pm 124,86	296 \pm 121,29	136,75 \pm 89,28

Kadar glukosa darah puasa hari ke-1 memperlihatkan hasil induksi diabetes oleh aloksan. Berdasarkan Tabel 4.3 menunjukkan perbedaan antara kelompok negatif dan nol bila dibandingkan dengan seluruh kelompok lain. Sedangkan, seluruh kelompok pemberian bahan uji tidak memiliki perbedaan dengan kontrol diabetes yang menunjukkan bahwa seluruh kelompok yang akan diberi perlakuan telah mengalami diabetes. Perbedaan kenaikan kadar glukosa darah setelah induksi aloksan disebabkan oleh variasi biologis dalam hewan uji.

Pada Tabel 4.3 yang menunjukkan peningkatan kadar glukosa darah pada kontrol positif semakin meningkat atau stabil dengan bertambahnya hari perlakuan. Hal ini menunjukkan bahwa kemampuan dari sel β Langerhans pankreas telah berkurang dalam memproduksi insulin. Sehingga yang berdampak pada peningkatan kadar glukosa darah yang telah mencapai lebih dari 300 mg/dL. Pada hari ke-0 kadar glukosa darah pada tikus kontrol positif masih berada pada kontrol normal. Sedangkan pada hari ke-1, kadar glukosa darah pada kontrol positif telah terjadi peningkatan yang mana pada hal ini tikus telah diinduksi dengan aloksan dan mengalami diabetes mellitus. Sementara itu pada hari ke-7, kadar glukosa tikus mengalami penurunan hal ini dimungkinkan dikarenakan kemampuan dari tubuh tikus itu sendiri yang mampu untuk menurunkan kadar glukosa. Namun pada hari ke-14, tikus kontrol positif telah mengalami kenaikan kadar glukosa darah, hal ini dimungkinkan karena kemampuan dari tubuh tikus dalam menurunkan kadar glukosa telah berkurang. Menurut Dor (2004) penurunan kadar glukosa darah yang ada pada kontrol positif ini disebabkan karena induksi dari aloksan tidak merusak seluruh sel β Langerhans pankreas sehingga insulin masih dapat disekresi. Walaupun mengalami penurunan kadar glukosa darah tikus kontrol positif pada hari terakhir perlakuan masih termasuk dalam kategori diabetes mellitus.

Kontrol glibenklamid belum mampu menurunkan kadar glukosa darah pada hari ke-7 bila dibandingkan dengan hari ke-1 paska tikus diinduksi dengan aloksan. Menurut Suherman (2007) hal ini mungkin terjadi karena glibenklamid terikat kuat pada protein plasma, terutama albumin. Akibatnya tidak terlihat penurunan kadar glukosa darah pada kontrol glibenklamid. Namun pada hari ke-14 kontrol glibenklamid telah mampu menurunkan kadar glukosa darah. Hal ini dimungkinkan glibenklamid telah mampu bekerja dalam meningkatkan sekresi insulin melalui interaksinya dengan ATP-sensitive K channel pada sekresi insulin melalui interaksinya dengan ATP-sensitive K channel pada membran sel-sel β menimbulkan depolarisasi membran dan keadaan ini akan membuka kanal Ca. Dengan terbentuknya kanal Ca, maka ion Ca^{2+} akan masuk ke dalam sel β kemudian merangsang granula yang berisi insulin dan akan terjadi sekresi insulin (Wibudi *et al.*, 2008).

Penurunan kadar glukosa darah pada perlakuan terapi ekstrak etanol 70 % umbi binahong 1 (dosis 25 mg/Kg BB) terjadi penurunan kadar glukosa darah bila dibandingkan dengan kontrol positif pada hari ke-7 sampai hari ke-14 paska terapi. Sementara itu, pada perlakuan terapi ekstrak etanol 70 % umbi binahong 2 (dosis 50

mg/kgBB) dan umbi binahong 3 (dosis 75 mg/kgBB) juga terjadi penurunan kadar glukosa darah bila dibandingkan dengan kontrol positif pada hari ke-7 sampai hari ke-14.

Mekanisme dari mengeruk radikal bebas oleh flavonoid dapat dijelaskan dari Gambar 4.4. Dasar dari reaksi itu merupakan abstraksi dari atom hidrogen oleh radikal bebas ($R\cdot$) memproduksi radikal flavonoid phenoxil ($FIO\cdot$) dengan sangat sedikit kereaktifannya. Radikal ini dapat lebih menyerang lagi oleh radikal bebas menuju formasi radikal flavonoid phenoxil yang ke dua. Karena flavonoid phenoxil mempunyai ikatan rangkap terkonjugasi dan terjadi delokalisasi elektron untuk menjadi struktur yang lebih stabil dan radikal bebas telah dinetralisasi.

Dari hasil penelitian bahwa kontrol Glibenklamid dan kontrol variasi dosis berpengaruh nyata terhadap penurunan kadar glukosa darah. Kemudian dilakukan analisis menggunakan SPSS 16,00 pada Uji One Way ANOVA. Uji One Way ANOVA digunakan untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan kontrol dalam menurunkan kadar glukosa darah.

Berdasarkan uji *One Way* ANOVA didapatkan nilai signifikansi $< \alpha$, Dimana nilai dari α adalah 0,05. Dengan demikian didapatkan bahwa hasil dari uji *One Way* ANOVA adalah menolak H_0 dan menerima H_1 . Dengan demikian terdapat perbedaan penurunan kadar glukosa darah pada masing-masing kontrol.

Berdasarkan hasil analisis statistika menunjukkan bahwa kelompok kontrol Glibenklamid yang dibandingkan dengan kelompok perlakuan kontrol dosis 25 mg/Kg BB ekstrak etanol 70 % umbi binahong, kontrol dosis 50 mg/Kg BB ekstrak etanol 70 % umbi binahong dan kontrol 75 mg/Kg BB ekstrak etanol 70 % umbi binahong

Diantara dosis 25 mg/Kg BB dan 75 mg/Kg BB, dosis yang paling optimum dalam menurunkan kadar glukosa darah berdasarkan hasil analisis menggunakan uji Duncan adalah dosis 25 mg/Kg BB. Meskipun dosis 75 mg/Kg BB hanya terdapat pada subset 3, namun dapat diinterpretasikan bahwa dosis 25 mg/Kg BB merupakan dosis yang paling optimum dalam menurunkan kadar glukosa darah karena dengan penggunaan dosis yang lebih sedikit namun memiliki kemampuan yang sama dengan dosis 75 mg/Kg BB.

Uji Kandungan Golongan Senyawa Aktif dengan Reagen

Data hasil identifikasi senyawa aktif dengan menggunakan uji reagen

Jenis Golongan	Warna Awal	Warna Akhir	(+/-)
----------------	------------	-------------	-------

Alkaloid	Mayer	Kuning emas	Endapan Jingga	+
	Dragendrof	Kuning emas	Endapan Kekuning-kuningan	+
Flavonoid		Kuning emas	Jingga	++
Tanin		Kuning emas	Hijau Kehitaman	+
Saponin		Kuning emas	Busa Tetap Stabil	+
Terpenoid		Kuning emas	Cincin Kecoklatan	+

Pemisahan Senyawa Flavonoid dengan KLTA

Eluen campuran n-butanol:asam asetat:air (BAA) 4:1:5 mampu memberikan resolusi terbaik, hal ini dapat dilihat dengan adanya noda yang terpisah dengan baik dan jumlah noda sebanyak 6 noda. Pada eluen n-butanol:asam asetat:air (BAA) 4:1:5 mampu memberikan pemisahan terbaik, hal ini dapat dilihat dengan adanya noda yang terpisah dengan baik dan jumlah noda 6 noda.

Dari keenam noda yang ada maka noda yang kedua dengan Rf sebesar 0,65 dan warna noda dengan lampu UV 366 berwarna hijau, noda yang keempat dengan Rf 0,81 dan warna noda pada lampu UV 366 berwarna merah serta noda yang kelima dengan nilai Rf 0,9 dengan warna noda pada UV 366 hijau pekat. Hal ini diperkuat oleh Harborne (1987) bahwa pada kromatogram BAA juga terdapat pemisahan yang lebih jelas antara O-glikosida dan C-glikosida flavon yang tak terhidrolisis (Rf pertengahan) dan aglikon (Rf tinggi) dengan warna hijau, merah dan lembayung.

Pemisahan Senyawa Flavonoid dengan KLTP

Eluen yang digunakan pada KLT preparatif adalah eluen terbaik hasil pemisahan pada KLT analitik yaitu n-butanol:asam asetat:air (BAA) dengan perbandingan (4:1:5). Noda yang dihasilkan pada plat KLT preparatif menghasilkan 5 noda. Pada panjang gelombang 254 nm noda yang terlihat hanya 3 noda, sedangkan dengan lampu UV dengan panjang gelombang 366 terlihat 5 noda. Rf, warna dan dugaan senyawa golongan flavonoid yang mungkin dari masing-masing noda di bawah sinar UV 254 nm dan sinar UV 366 nm.

Noda-noda yang dihasilkan pada masing-masing panjang gelombang dikerok dan dilarutkan dalam pelarut metanol. Kemudian diidentifikasi menggunakan spektrofotometri UV-Vis.

Identifikasi Senyawa Flavonoid Identifikasi dengan Spektrofotometer UV-Vis

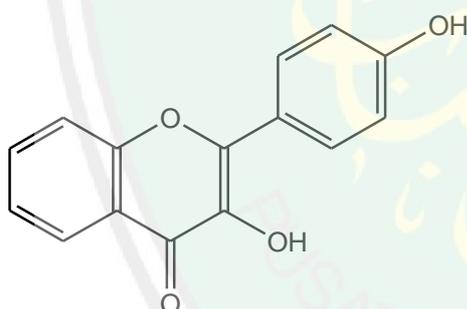
Penentuan spektrum menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan penambahan pereaksi geser NaOH 2 M, AlCl₃ 5 %, AlCl₃, AlCl₃/HCl, NaOAc dan NaOAc/H₃BO₃,

Dari data spektrum di atas didapatkan senyawa flavonoid yang mungkin dari hasil KLT preparatif adalah isolat 2, 4 dan 5, isolat yang lain bukan merupakan senyawa flavonoid karena ketika ditambahkan metanol pada isolat tidak mendapatkan nilai panjang gelombang maksimum ketika diuji menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Sehingga diperkirakan isolat-isolat tersebut merupakan senyawa polifenol yang lain.

Penentuan Struktur Senyawa Flavonoid

Penentuan Struktur Senyawa Flavonoid dari Isolat 2

Berdasarkan data interpretasi perubahan panjang gelombang maksimum menggunakan spektrofotometer UV-vis, senyawa flavonoid yang terkandung dalam isolat 2 diduga termasuk golongan flavonol. Dengan kemungkinan terdapat C-3, C-6, C-7 dan C-4'. Pergeseran panjang gelombang pada isolat 2 hampir sama dengan penelitian Inayah (2011) pada isolat 8, diduga jenis flavonoidnya 3,4'-dihidroksi flavonol.

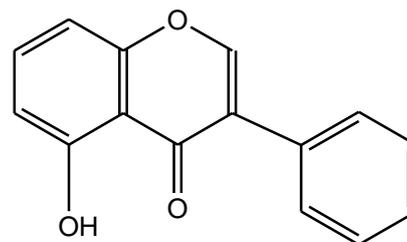


3,4'-dihidroksi flavonol

Gambar 4.13 Struktur dugaan senyawa flavonoid isolat 2

Penentuan Struktur Senyawa Flavonoid dari Isolat 4

Berdasarkan data interpretasi perubahan panjang gelombang maksimum isolat 4 dari spektrofotometer UV-vis maka senyawa flavonoid yang mungkin dari isolat 4 termasuk golongan isoflavon dengan kemungkinan terdapat gugus hidroksi pada C-5.

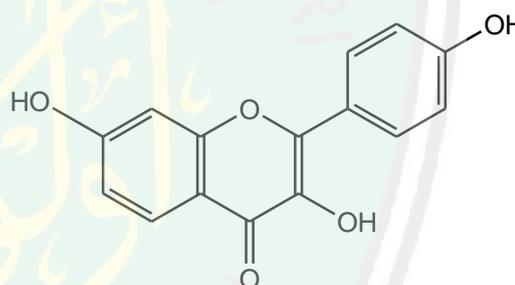


5-hidroksi isoflavon

Gambar 4.14 Struktur dugaan senyawa flavonoid isolat 4

Penentuan Struktur Senyawa Flavonoid dari Isolat 5

Berdasarkan data interpretasi perubahan panjang gelombang maksimum isolat 5 dari spektrofotometer UV-vis maka senyawa flavonoid yang mungkin dari isolat 5 termasuk golongan flavonol dengan kemungkinan terdapat gugus hidroksi pada C-3, C-6, C-7 dan C-4'. Pergeseran panjang gelombang pada isolat 5 hampir sama dengan penelitian Arishandy (2010) pada isolat 8, di duga jenis flavonoidnya 3,7,4'-butahidroksi flavonol.



3,7,4'-trihidroksi flavonol

Gambar 4.15 Struktur dugaan senyawa flavonoid dalam isolat 5.

PENUTUP

Kesimpulan

1. Terdapat pengaruh terapi ekstrak etanol 70 % umbi binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) terhadap penurunan kadar glukosa darah. Berdasarkan uji One Way Anova menunjukkan bahwa penurunan kadar glukosa masing-masing kelompok perlakuan berbeda nyata. Berdasarkan hasil uji duncan didapatkan bahwa kontrol dosis umbi binahong 25 mg/Kg BB merupakan dosis yang paling optimum dalam menurunkan kadar glukosa darah dengan rata-rata penurunan kadar glukosanya adalah 307,25 mg/dL.
2. Jenis senyawa flavonoid yang terdapat dalam umbi binahong adalah senyawa flavonol dan isoflavon.

Saran

Pemberian ekstrak flavonoid untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak flavonoid terhadap penurunan kadar glukosa darah

DAFTAR PUSTAKA

Arishandy, D.N.A.T., Hayati., E.K dan Fasya. A.G. 2010. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid Daun Sirih (*Piper betle L. var Rubrum*). *Skripsi* Tidak Diterbitkan. Malang: Jurusan Kimia Saintek UIN Malang.

Astuti, A.D. 2012. Efek Penurunan Kadar Glukosa Darah Dari Ekstrak Etanol Daun Alpukat (*Persea americana Mill*) Pada Tikus Putih Jantan yang Dibebani Glukosa. *Skripsi* Tidak Diterbitkan. Depok: Jurusan Farmasi MIPA Universitas Indonesia.

Astuti, S. Tanpa Tahun. Determination of Saponin Compound from Anredera cordifolia (Ten) Steenis Plant (Binahong) to Potential Treatment for Several Diseases. *Jurnal Kimia*. Vol 3 no 4.

Aulanni'am, Anna, R dan Nur, L.R. 2012. The Potency of Sargassum Duplicatum Bory Extract on Inflammatory Bowel Disease

Therapy in Rattus norvegicus. *Journal of Life Sciences* 6 (144-154).

Inayah, F. 2011. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid Dari Ekstrak Metanol Tanaman Anting-Anting (*Acalypha indica* Linn.). *Skripsi*. Tidak Diterbitkan: Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.

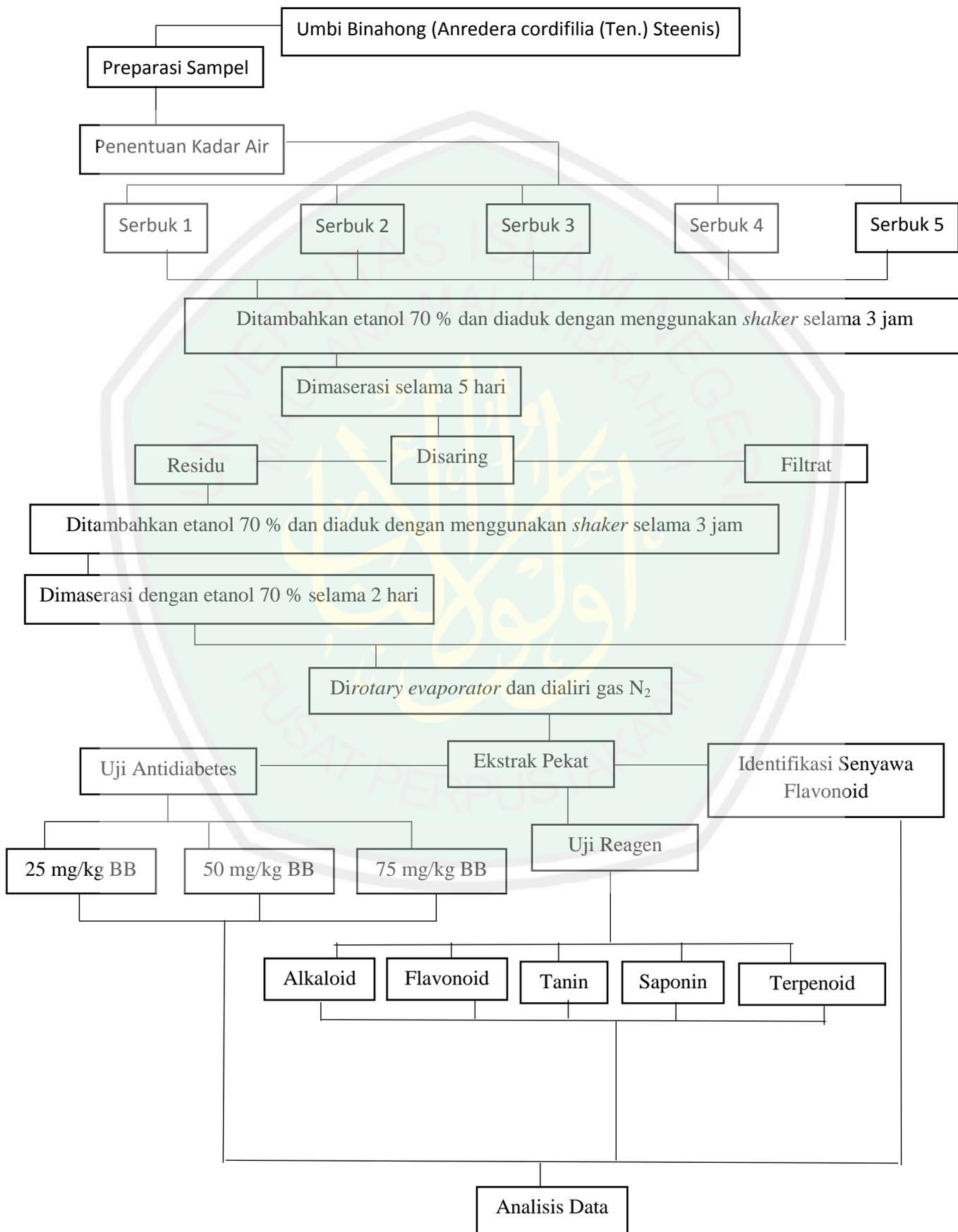
Lukiati, Aulanni'an dan Darmanto. 2012. Profil Distribusi INOS dan Kadar Pankreas Tikus Diabetes Mellitus Hasil Induksi MLD-STZ Pasca Pemberian Ekstrak Etanol Temugiring. *Jurnal Kimia*. Vol 6 NO. 2.

Markham, K.R. 1988. *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*. Terjemahan Kosasih Padmawinata. Bandung: Penerbit ITB.

Sriwahyuni, I. 2010. Uji Fitokimia Ekstrak Tanaman Anting-Anting (*Acalypha Indica* Linn) dengan Variasi Pelarut dan Uji Toksisitas Menggunakan *Brine Shrimp* (*Artemia salina* Leach). *Skripsi*. Tidak Diterbitkan. Malang : Jurusan Kimia Universitas Islam Negeri Malang.

Lampiran

Lampiran 1. Rancangan Penelitian



Lampiran 2. Skema Kerja

L.2.1 Preparasi Sampel



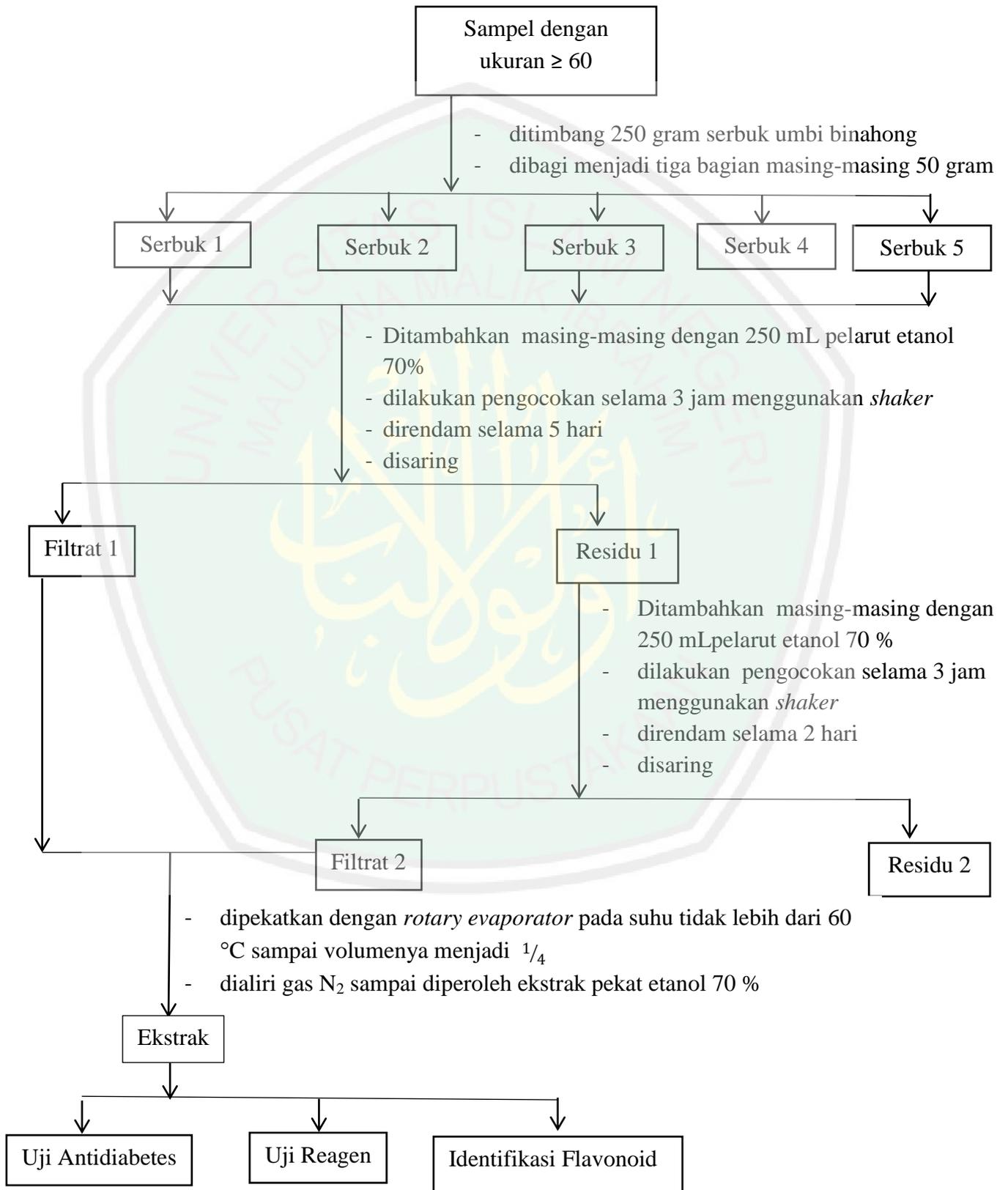
L.2.2 Analisis Kadar Air

Serbuk Umbi
Binahong

- dipanaskan dahulu cawan yang digunakan dalam oven pada suhu 100-105⁰ C sekitar 15 menit untuk menghilangkan kadar airnya
 - disimpan cawan dalam desikator sekitar 10 menit
 - ditimbang dan dilakukan perlakuan yang sama sampai diperoleh berat cawan yang konstan
 - ditimbang sampel sebanyak 5 g
 - dimasukkan ke dalam cawan penguap yang telah diketahui beratnya
 - dikeringkan ke dalam oven pada suhu 100-105⁰ C selama sekitar 1 jam
 - didinginkan dalam desikator dan ditimbang
 - dipanaskan kembali dalam oven ± 20 menit pada suhu yang sama
 - didinginkan dalam desikator dan ditimbang kembali (perlakuan ini diulangi sampai tercapai berat konstan)
 - dihitung menggunakan rumus berikut:
 - Kadar air = $\frac{(b-c)}{(b-a)} \times 100\%$
- Keterangan: *a* = berat konstan cawan kosong
b = berat cawan + sampel sebelum dikeringkan
c = berat konstan cawan + sampel setelah dikeringkan
- Faktor koreksi = $\frac{100}{100 - \% \text{ kadar air}}$
 - % Kadar air terkoreksi = Kadar air – Faktor koreksi
 - dilakukan pembレンダーan yang bertujuan untuk lebih memperkecil ukuran partikel
 - dilakukan pengayakan dengan ayakan 60 mesh
 - diekstraksi dengan maserasi menggunakan pelarut etanol 70%

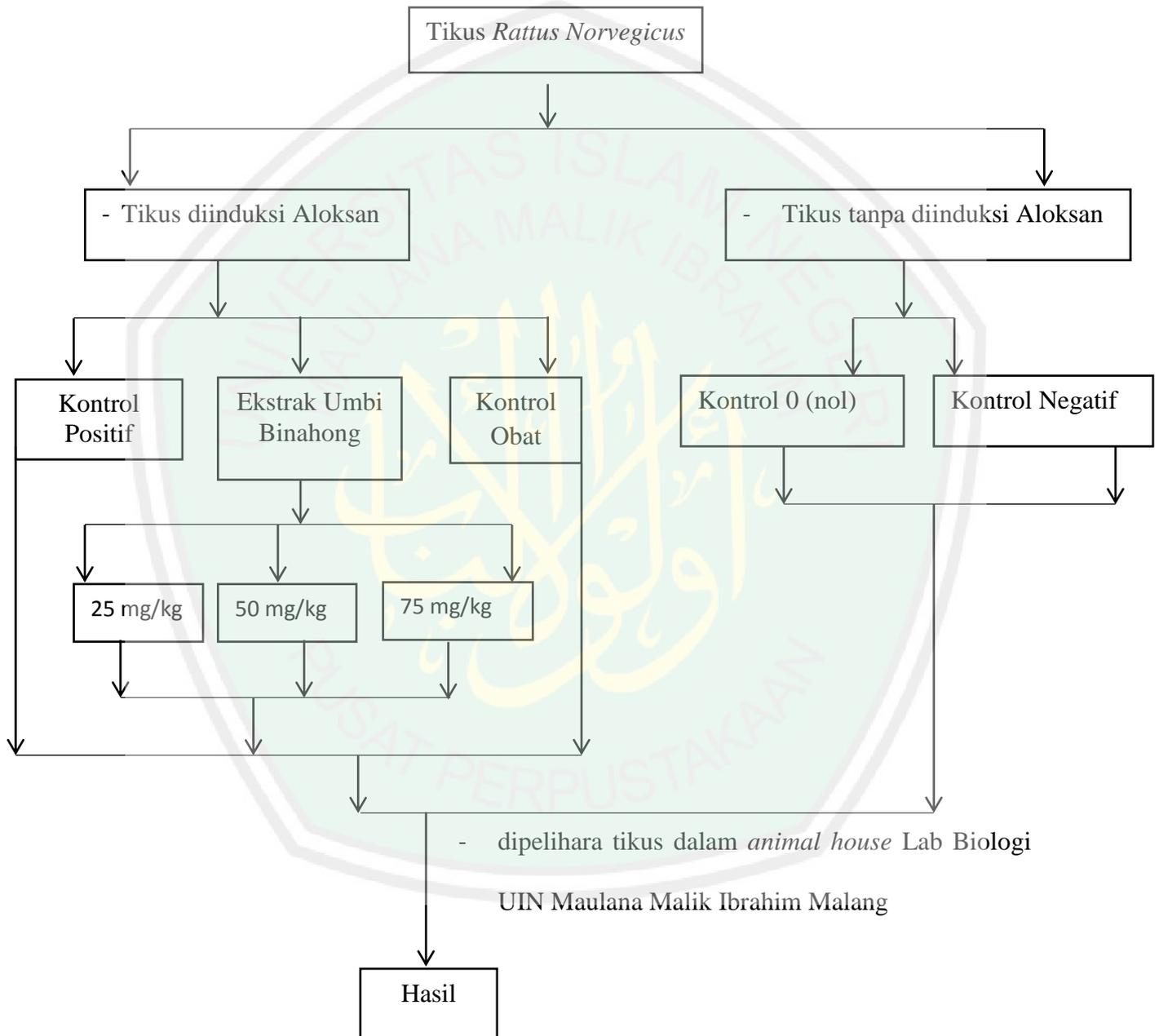
Hasil

L.2.3 Ekstraksi Umbi Binahong



L.2.4 Uji Antidiabetes Mellitus

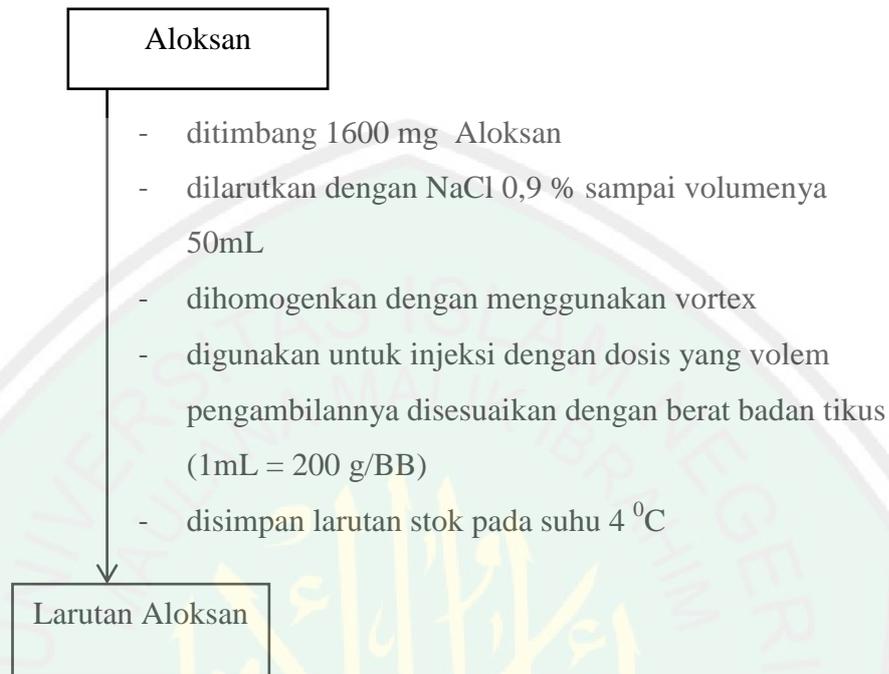
L.2.4.1 Preparasi Hewan Coba



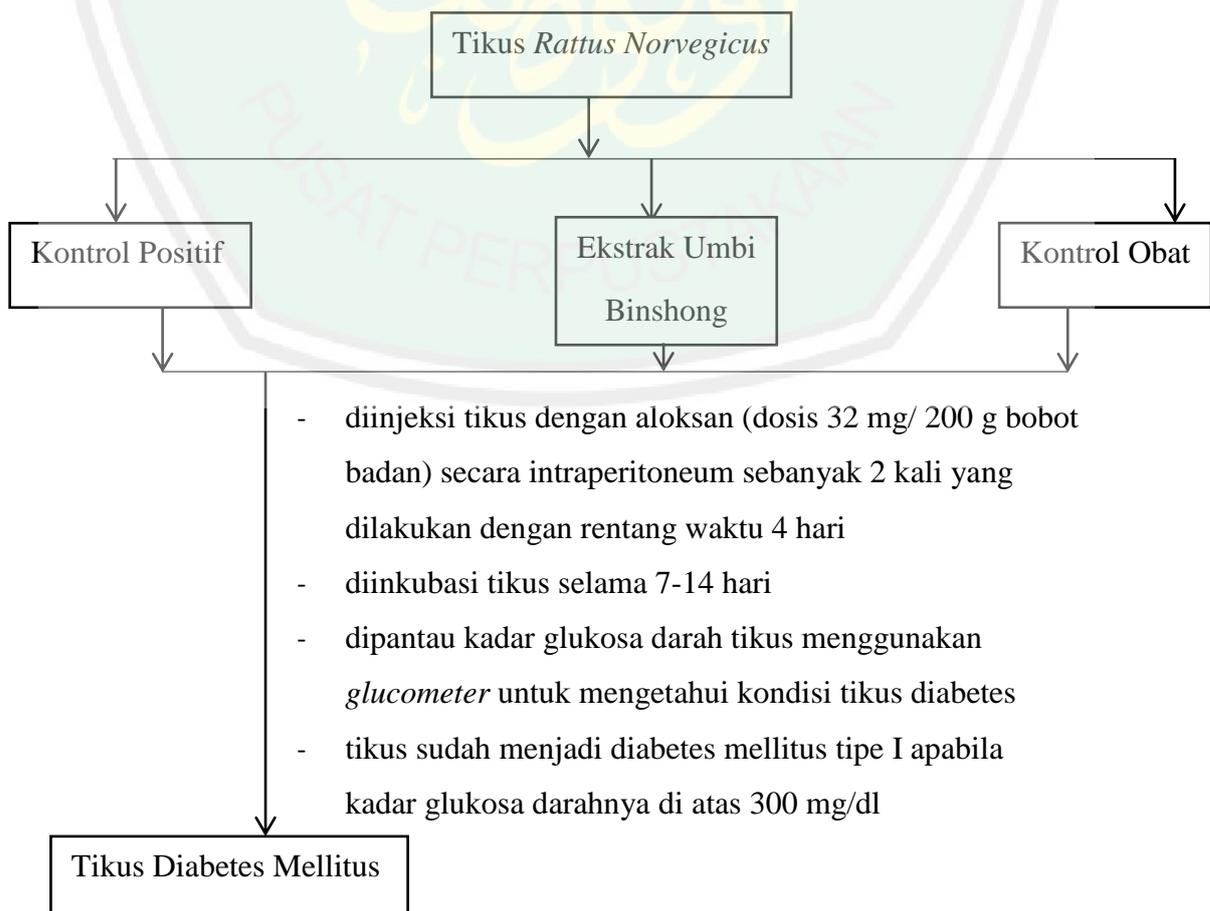
Keterangan :

- Jumlah tikus masing-masing kelompok adalah 4 ekor.

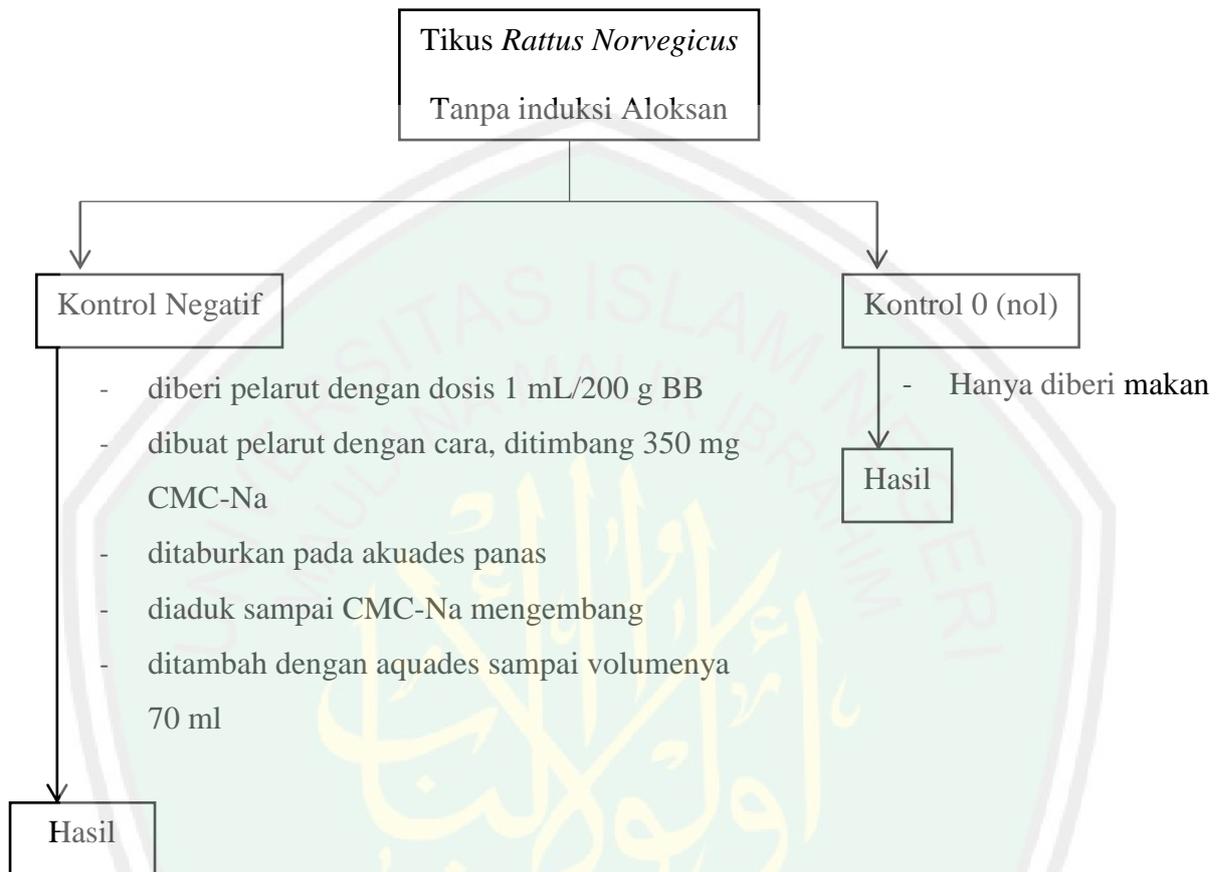
L.2.4.2 Pembuatan Larutan Aloksan



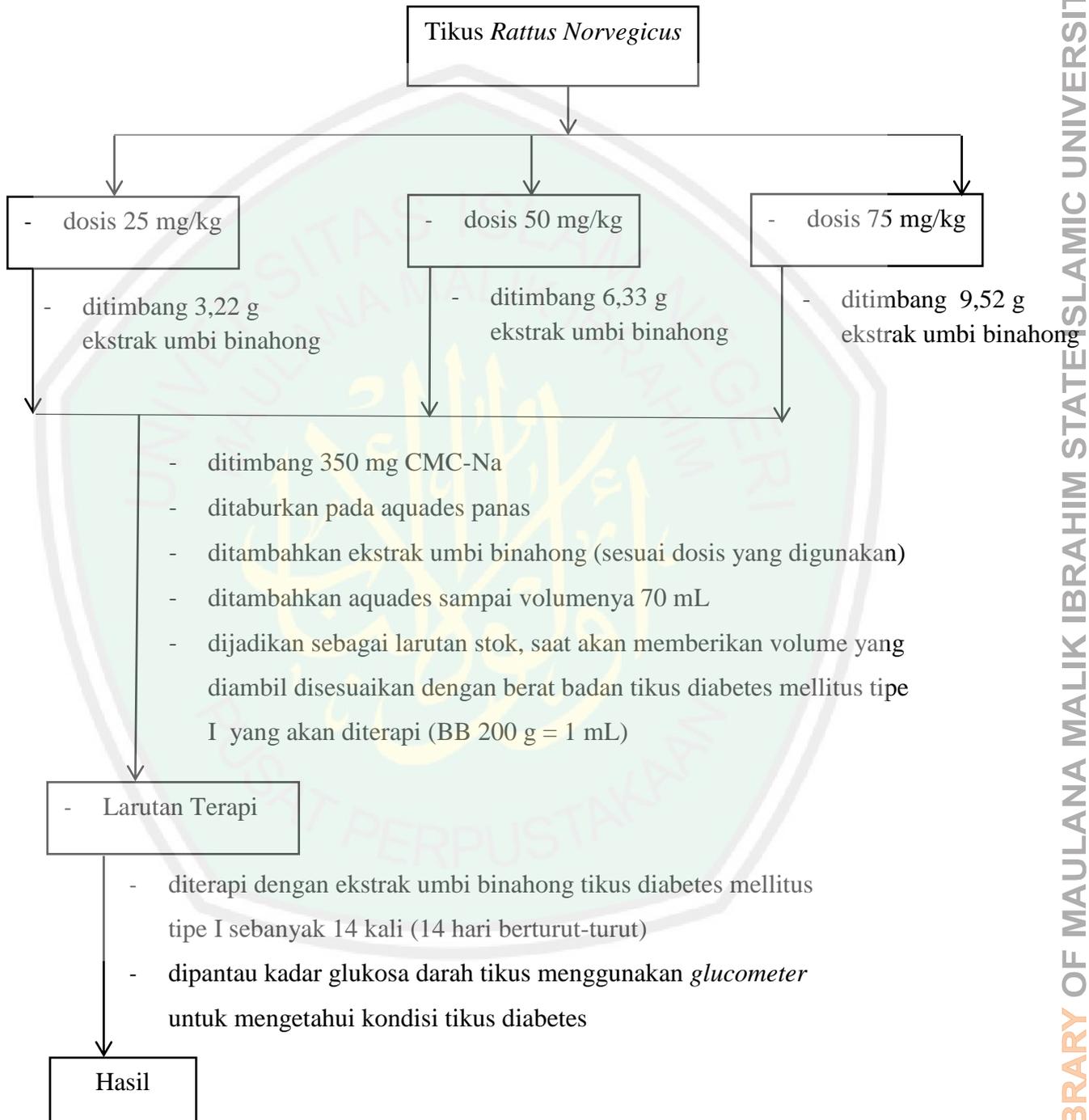
L.2.4.3 Pembuatan Tikus Diabetes Mellitus (DM)



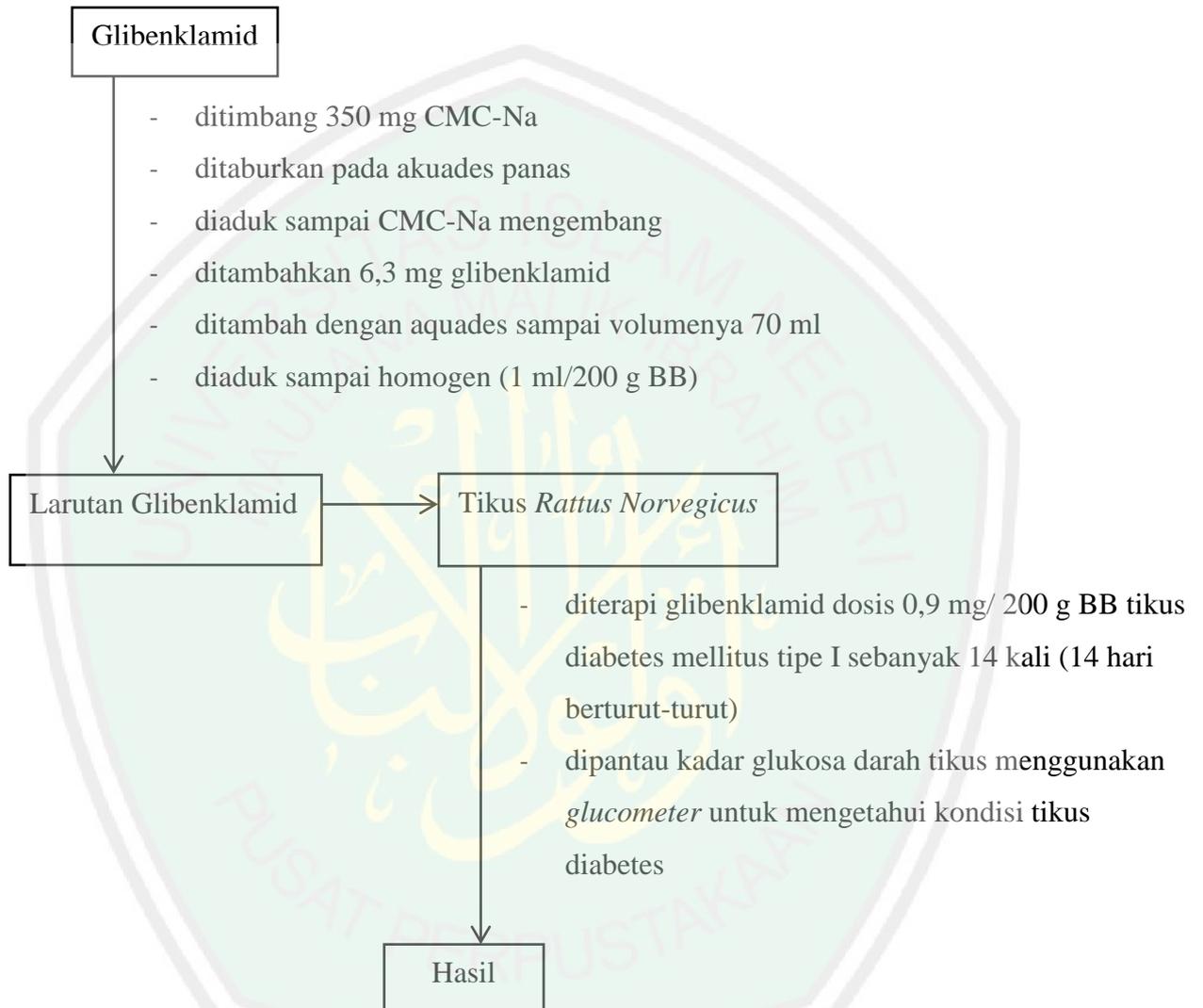
L.2.4.4 Pembuatan Tikus Kontrol Negatif dan Kontrol 0 (nol)



L.2.4.5 Terapi Tikus Diabetes dengan Ekstrak Umbi Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis)

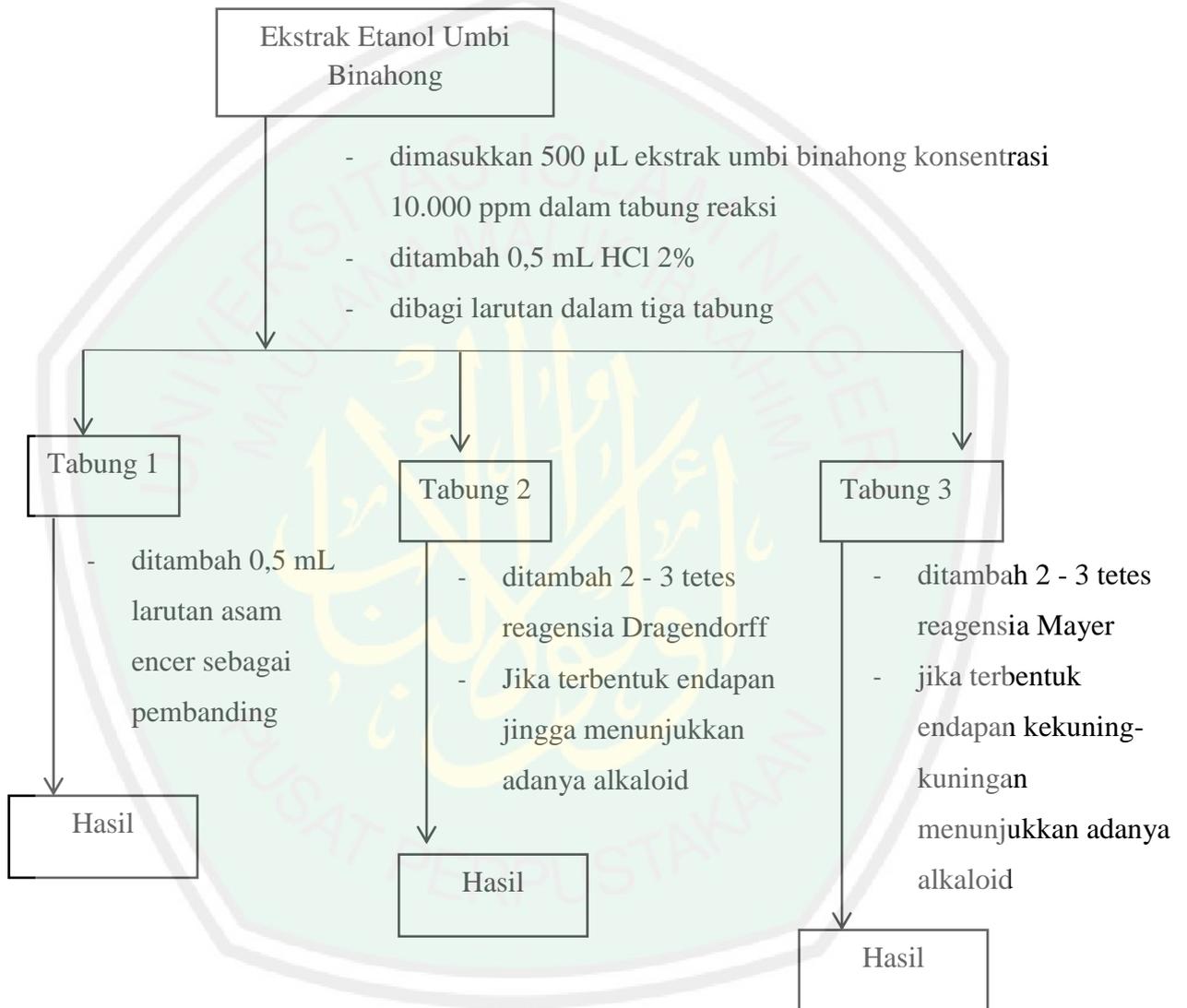


L.2.4.6 Terapi Tikus Diabetes dengan Glibenklamid

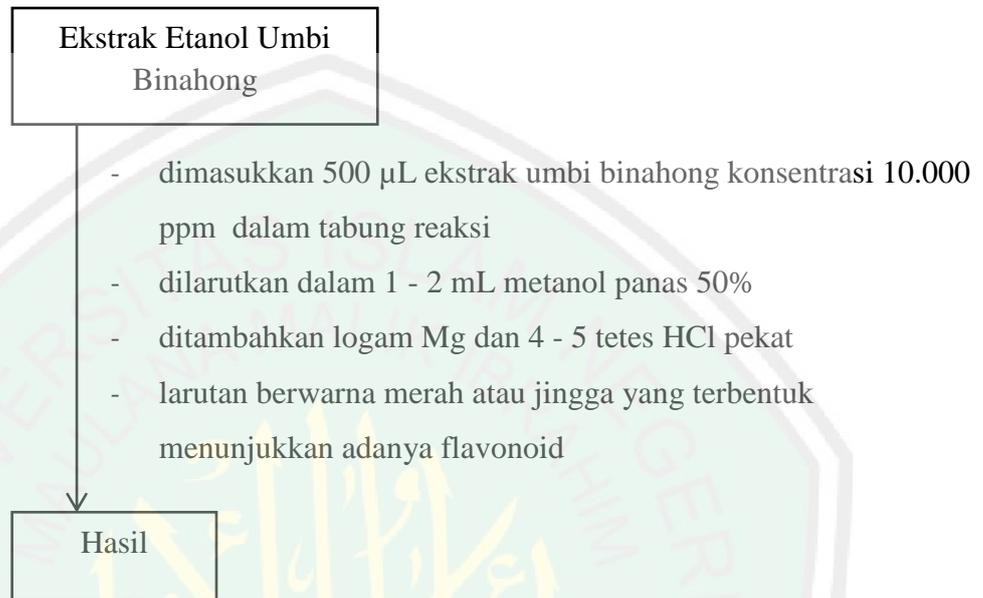


L.2.5 Uji Fitokimia dengan Reagen

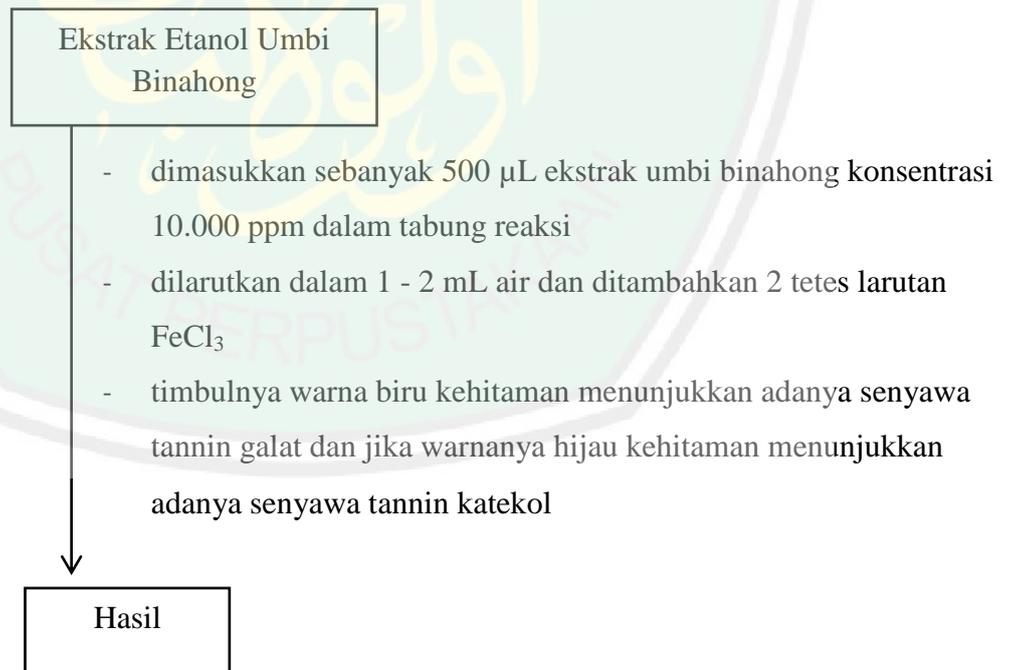
L.2.5.1 Uji Alkaloid



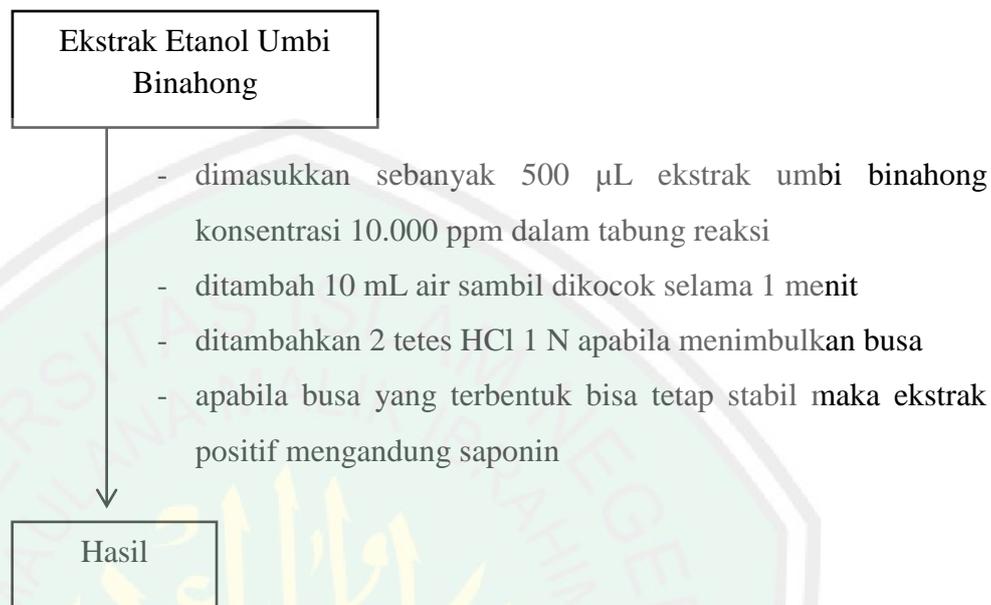
L.2.5.2 Uji Flavonoid



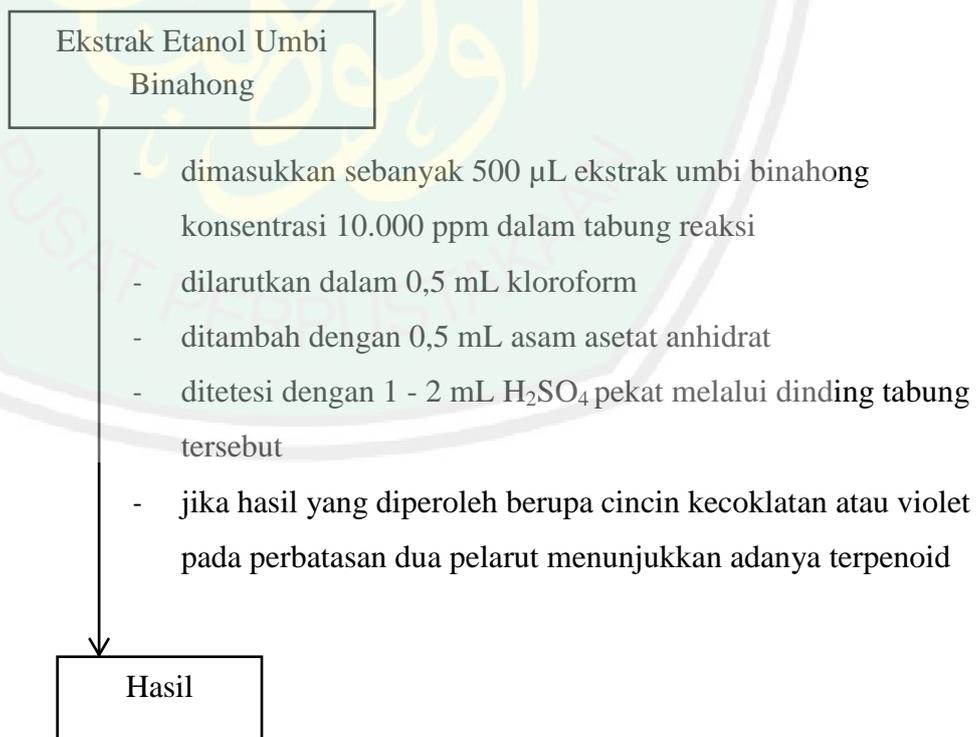
L.2.5.3 Uji Tanin



L.2.5.4 Uji Saponin

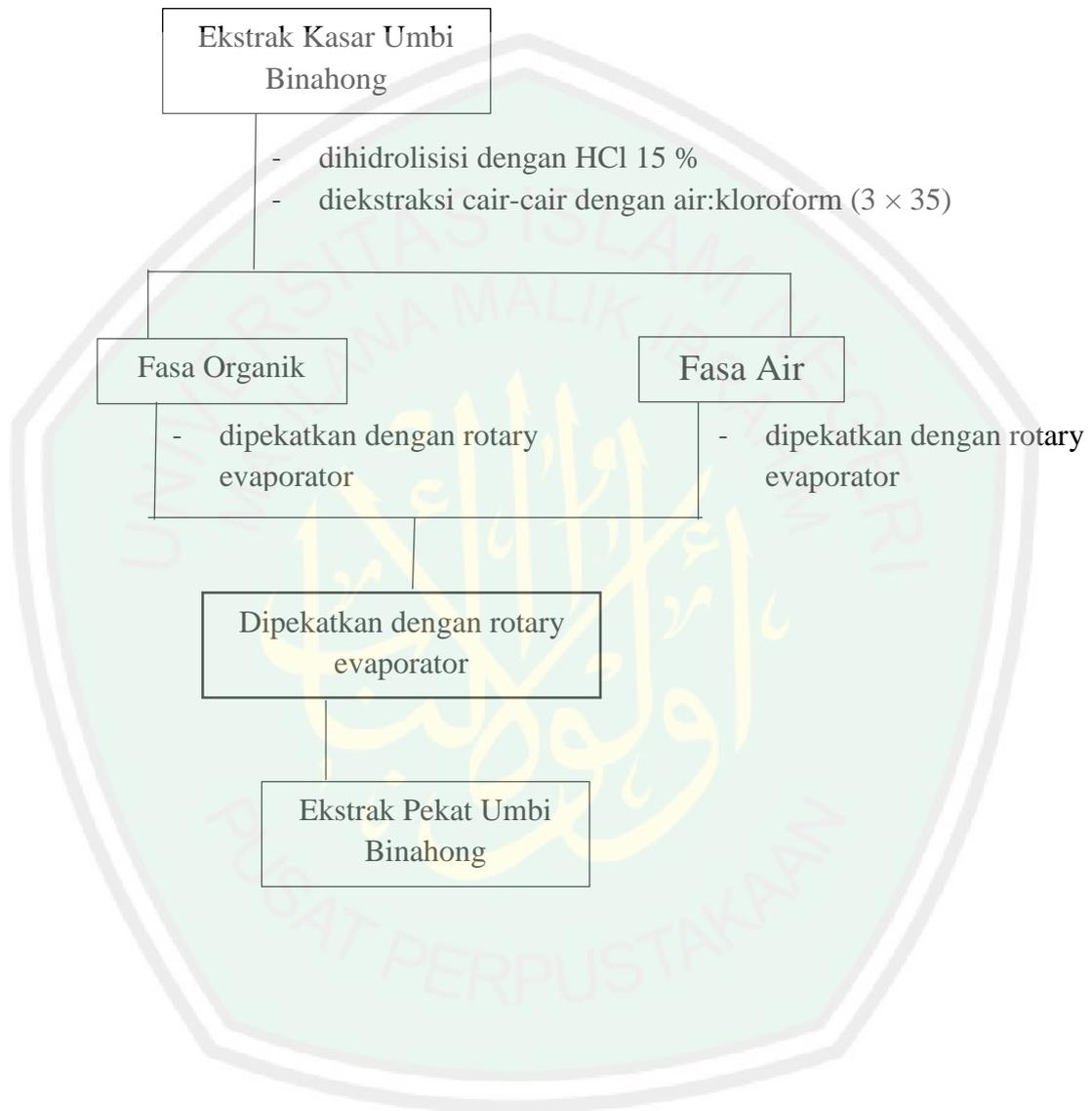


L.2.5.5 Uji Terpenoid

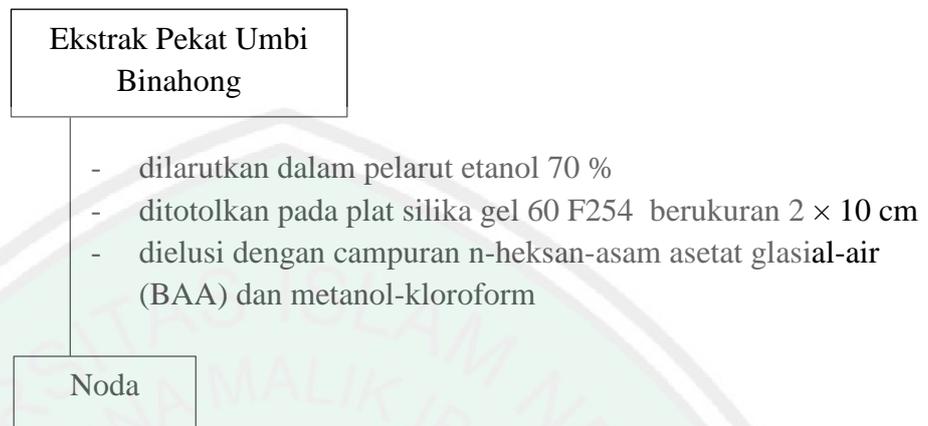


L.2.6 Identifikasi Flavonoid

L.2.6.1 Ekstraksi Flavonoid Dari Ekstrak Kasar Umbi Binahong



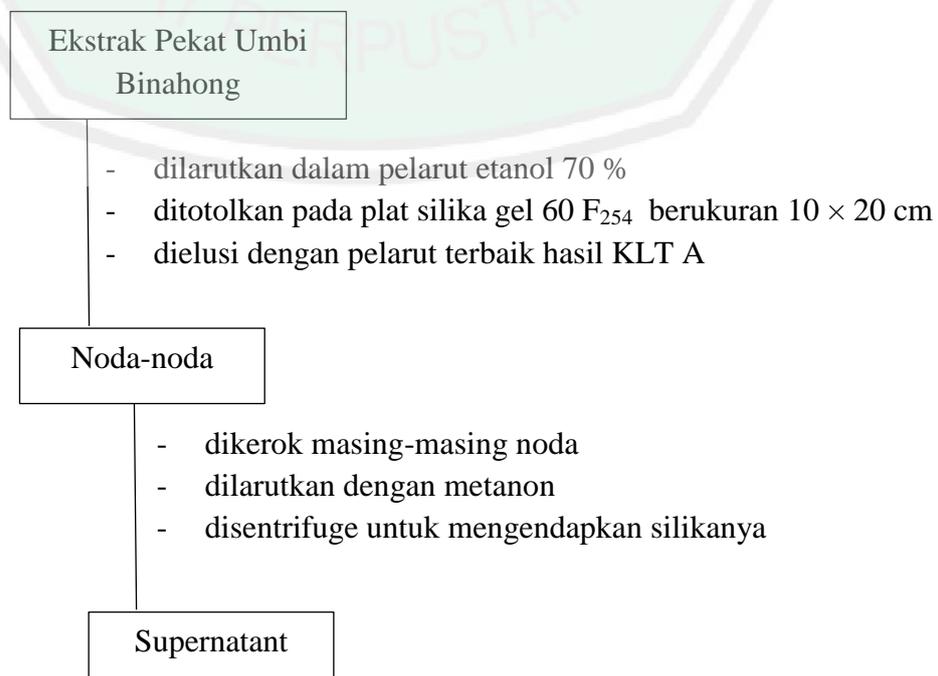
L.2.6.2 Pemisahan Senyawa Flavonoid Kromatografi Lapis Tipis (KLT) Analitik



Keterangan:

- Eluen BAA yang digunakan komposisinya yaitu: BAA (4:1:5), BAA (6:1:2)
- Eluen metanol-kloroform yang digunakan komposisinya yaitu: metanol-kloroform (7:3), (6:4), (5:5), (4:6), (3:7), (2:8), (1:9), (1:19) dan (1:39)
- Perlakuan diulng dengan menggunakan fasa air

L.2.6.3 Pemisahan Senyawa Flavonoid dengan Kromatografi Lapis Tipis (Preparatif)



L.2.6.4 Identifikasi dengan Spektrofotometer UV-Vis

5 mL isolat-isolat hasil KLTP

- dimasukkan dalam kuvet
- diamati spektrum pada panjang gelombang 200-600 nm

Spektrum

Identifikasi dilanjutkan dengan penambahan pereaksi geser NaOH 2 M, AlCl_3 5 %, NaOAc dan H_3BO_3

5 mL isolat yang diduga sebagai senyawa flavonoid

- dimasukkan dalam kuvet
- diamati spektrum pada panjang gelombang 200-600 nm

Spektrum

5 mL isolat yang diduga sebagai senyawa flavonoid

- ditambah 3 tetes NaOH 2 M
- dikocok hingga homogen
- dimasukkan dalam kuvet
- diamati spektrumnya

Spektrum

5 mL isolat yang diduga sebagai senyawa flavonoid

- ditambah 6 tetes pereaksi AlCl_3 5 % dalam metanol
- dikocok hingga homogen
- dimasukkan dalam kuvet
- diamati spektrumnya

Spektrum

- ditambah 3 tetes HCl
- dikocok hingga homogen
- dimasukkan dalam kuvet
- diamati spektrumnya

Spektrum

5 mL isolat yang diduga sebagai senyawa flavonoid

- ditambah 250 mg serbuk natrium asetat
- dikocok hingga homogen
- dimasukkan dalam kuvet
- diamati spektrumnya

Spektrum

- ditambah 150 mg asam borat
- dikocok hingga homogen
- dimasukkan dalam kuvet
- diamati spektrumnya

Spektrum

Lampiran 3. Pembuatan larutan

L.3.1 Pembuatan Reagen Dragendorff

Pembuatan pereaksi Dragendorff, dilakukan dalam 2 bagian larutan yang berbeda. Pada larutan A, sebanyak 0,85 gr bismutsubnitrat dilarutkan dalam campuran 40 mL aquades dengan 10 mL HCl dalam beaker glass 100 mL. Pada larutan B, sebanyak 8 g kalium iodida dilarutkan dalam 20 mL aquades dalam beaker glass 100 mL. Kemudian, masing-masing dari larutan A dan larutan B diambil sebanyak 5 mL untuk selanjutnya dicampurkan dengan 20 mL HCl dan ditandabatkan dengan aquades hingga 100 mL dalam labu ukur 100 mL

L.3.2 Pembuatan Reagen Mayer

Larutan I. HgCl_2 1,358 g dalam aquades 60 mL

Larutan II. KI 5 g dalam aquades 10 mL

Cara pembuatannya adalah larutan I dibuat dengan menimbang HgCl_2 1,358 g dengan neraca analitik kemudian dimasukkan dalam beaker glass 100 mL dan dilarutkan dengan menambahkan aquades 60 mL dan larutan II dibuat dengan menimbang KI 5 g dengan neraca analitik kemudian dimasukkan dalam beaker glass 250 mL dan dilarutkan dengan menambahkan aquades 10 mL. Masing-masing dilakukan pengadukan dengan spatula sampai larut sempurna. Selanjutnya larutan I dituangkan ke dalam larutan II dan dihomogenkan dengan pengadukan menggunakan pengaduk gelas. Setelah kedua larutan homogen, campuran larutan tersebut dipindahkan dalam labu takar 100 mL dan diencerkan dengan aquades sampai tanda batas (Manan, 2006).

L.3.3 Pembuatan Metanol 50%

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$99,8 \% \times V_1 = 50 \% \times 10 \text{ mL}$$

$$V_1 = 5 \text{ mL}$$

Cara pembuatannya adalah diambil larutan metanol 99,8% sebanyak 5 mL dengan pipet volum 5 mL, kemudian dimasukkan dalam labu ukur 10 mL. Ditambahkan aquades dengan menggunakan pipet tetes sampai tanda batas (digunakan miniskus atas) dikocok hingga homogen.

L.3.4 Pembuatan Etanol 70 %

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$98,9 \% \times V_1 = 70\% \times 1000 \text{ mL}$$

$$V_1 = 707,9 \text{ mL}$$

Cara pembuatannya adalah diambil larutan etanol 99,8% sebanyak 100 mL dengan pipet volum 100 mL sebanyak 7 kali kemudian ditambahkan 7,9 mL etanol 98 % dengan menggunakan pipet ukur 10 mL, kemudian dimasukkan dalam labu ukur 1000 mL. Ditambahkan aquades dengan menggunakan pipet tetes sampai tanda batas (digunakan miniskus atas) dikocok hingga homogen.

L.3.5 Pembuatan FeCl₃ 1 %

$$\text{BM FeCl}_3 = 162,2 \text{ g/mol}$$

$$\begin{aligned} \text{Massa FeCl}_3 &= \frac{1 \% \times \text{BM FeCl}_3 \times V}{22,4} \\ &= \frac{1 \% \times 162,2 \text{ g/mol} \times 0,01L}{22,4} \\ &= 0,072 \text{ g} = 72 \text{ mg} \end{aligned}$$

Jadi, untuk membuat larutan FeCl₃ 1% adalah ditimbang sebanyak 72 mg serbuk FeCl₃ dengan neraca analitik dalam gelas arloji, dimasukkan dalam beaker glass 50 mL untuk dilarutkan dengan ± 3 mL aquades dengan dialirkan pada gelas arloji (untuk mengambil sisa FeCl₃ yang terdapat pada gelas arloji). Dilakukan pengadukan dengan gelas pengaduk sampai larut sempurna. Setelah larut, dipindahkan dalam labu takar 10 mL, serta ditambahkan sedikit aquades pada beaker glass yang telah digunakan untuk pembuatan FeCl₃ (agar tidak terdapat FeCl₃ sisa) dan ditambahkan aquades dengan menggunakan pipet tetes sampai tanda batas (digunakan minustus atas) dikocok hingga homogen.

L.3.6 Pembuatan larutan HCl 1 N

$$\text{BJ HCl pekat} = 1,19 \text{ g/mL} = 1190 \text{ g/L}$$

$$\% \text{ Volume} = 37\% (0,37)$$

$$\text{BM HCl} = 36,42 \text{ gr/mol}$$

$$n = 1 \text{ (jumlah mol ion H}^{\text{+}}\text{)}$$

Molaritas HCl (M) :

$$\text{Massa HCl} = \text{BJ HCl pekat} \times \%$$

$$= 1190 \text{ g/L} \times 0,37$$

$$= 440,3 \text{ gr}$$

$$\text{Mol HCl} = \frac{\text{Massa HCl}}{\text{BM HCl}} = \frac{440,3 \text{ gr}}{36,42 \text{ gr/mol}} = 12,09 \text{ mol}$$

$$\text{Konsentrasi HCl (M)} = \frac{\text{Mol HCl}}{\text{Volume HCl}} = \frac{12,09 \text{ mol}}{1 \text{ L}} = 12,09 \text{ M}$$

$$\text{Normalitas HCl} = n \times \text{Molaritas HCl}$$

$$= 1 \times 12,09 \text{ M}$$

$$= 12,09 \text{ N}$$

$$N_1 \times V_1 = N_2 \times V_2$$

$$12,09 \text{ N} \times V_1 = 1 \text{ N} \times 100 \text{ mL}$$

$$V_1 = 8,27 \text{ mL} = 8,3 \text{ mL}$$

Cara pembuatannya adalah diambil larutan HCl pekat 37% sebanyak 8,3 mL dengan pipet ukur 10 mL, kemudian dimasukkan dalam labu ukur 100 mL yang sebelumnya berisi \pm 15 mL aquades. Selanjutnya ditambahkan aquades dengan menggunakan pipet tetes sampai tanda batas (digunakan miniskus atas) dikocok hingga homogen (semua perlakuan dilakukan dalam lemari asam).

L.3.7 Pembuatan Larutan HCl 2 %

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$37 \% \times V_1 = 2 \% \times 10 \text{ mL}$$

$$V_1 = 0,6 \text{ mL}$$

Cara pembuatannya adalah diambil larutan HCL 37 % sebanyak 0,6 mL dengan pipet ukur 1 mL, kemudian dimasukkan dalam labu ukur 10 mL. Ditambahkan aquades dengan menggunakan pipet tetes sampai tanda batas (digunakan miniskus atas) dikocok hingga homogen.

L.3.8 Pembuatan Larutan HCl 15 %

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$37 \% \times V_1 = 5 \% \times 10 \text{ mL}$$

$$V_1 = 0,74 \text{ mL}$$

Cara pembuatannya adalah diambil larutan HCL 37 % sebanyak 0,75 mL dengan pipet ukur 1 mL, kemudian dimasukkan dalam labu ukur 10 mL. Ditambahkan aquades dengan menggunakan pipet tetes sampai tanda batas (digunakan miniskus atas) dikocok hingga homogen.

L.3.9 Pembuatan Larutan NaCl 0,9 %

Kristal NaCl ditimbang sebanyak 0,9 g dengan neraca analitik dalam gelas arloji, dimasukkan dalam beaker glass 50 mL untuk dilarutkan dengan ± 3 mL aquades dengan dialirkan pada gelas arloji (untuk mengambil sisa NaCl yang terdapat pada gelas arloji). Dilakukan pengadukan dengan gelas pengaduk sampai larut sempurna. Setelah larut sempurna, dimasukkan dalam labu takar

100 mL dengan menggunakan corong gelas, serta ditambahkan sedikit aquades pada beaker glass yang telah digunakan untuk pembuatan NaCl (agar tidak terdapat NaCl sisa) dan ditambahkan aquades dengan menggunakan pippet tetes sampai tanda batas (digunakan miniskus atas) dikocok hingga homogen.

L.3.10 Pembuat Pereaksi Geser

L.3.10.1 Pembuatan Larutan NaOH 2 M

$$M \text{ NaOH} = \frac{\text{mol}}{\text{volum}}$$

$$2 \text{ M} = \frac{\text{massa/berat molekul}}{\text{volum}}$$

$$2 \text{ M} = \frac{\text{massa}/40 \text{ g/mol}}{0,1 \text{ L}}$$

$$\text{Massa NaOH} = M \times \text{Berat Molekul} \times \text{Volume}$$

$$\text{Massa NaOH} = 2 \times 40 \times 0,1$$

$$\text{Massa NaOH} = 8 \text{ gram}$$

Ditimbang sebanyak 8 gram NaOH ke dalam gelas arloji, kemudian dipindahkan pada beaker glass dan ditambahkan 30 mL aquades. Setelah itu dipindahkan ke dalam labu ukur 100 mL dan ditambahkan aquades sampai tanda batas dan dikocok hingga homogen

L.3.10.2 Pembuatan Larutan Alumunium Klorda (AlCl_3) 5 %

Ditimbang 5 g AlCl_3 segar dan kering kemudian dipindahkan ke dalam beaker glass dan ditambahkan dengan hati-hati 30 mL metanol p.a diaduk sampai larut, kemudian dipindahkan ke dalam labu ukur 100 mL dan ditambahkan metanol p.a sampai tanda batas dan dikocok hingga homogen.

Lampiran 4. Penentuan dan Perhitungan Dosis

L.4.1 Dosis Ekstrak Etanol Umbi Binahong

Hewan dan BB rata-rata	Mencit 20 g	Tikus 200 g	Marmut 400 g	Kelinci 1,5 kg	Kucing 2 kg	Kera 4 kg	Anjing 12 kg	Manusia 70 kg
Mencit 20 g	1,0	7,0	12,29	27,8	28,7	64,1	124,2	387,9
Tikus 200 g	0,14	1,0	1,74	3,9	4,2	9,2	17,8	60,5
Marmut 400 g	0,06	0,57	1,0	2,25	2,4	5,2	10,2	31,5
Kelinci 1,5 kg	0,04	0,25	0,44	1,0	1,06	2,4	4,5	14,2
Kucing 2 kg	0,03	0,23	0,41	0,92	1,0	2,2	4,1	13,0
Kera 4 kg	0,016	0,11	0,19	0,42	0,45	1,0	1,9	6,1
Anjing 12 kg	0,008	0,06	0,10	0,22	0,24	0,52	1,0	3,1
Manusia 70 kg	0,0026	0,018	0,031	0,07	0,76	0,16	0,32	10

Penentuan dosis ekstrak etanol umbi binahong untuk mencit adalah sebagai berikut:

Misalnya berat badan manusia 70 kg, maka dosis tikus adalah:

$$\text{Dosis 1} = 25 \text{ mg/kg BB} \times 70 \text{ kg} = 1750 \text{ mg}$$

$$1750 \text{ mg} \times 0,018 = 31,5 \text{ mg/200 g BB}$$

$$= 0,157 \text{ mg/g BB}$$

$$\text{Dosis 2} = 50 \text{ mg/kg BB} \times 70 \text{ kg} = 3500 \text{ mg}$$

$$3500 \text{ mg} \times 0,018 = 63 \text{ mg/200 g BB}$$

$$= 0,315 \text{ mg/g BB}$$

$$\text{Dosis 3} = 75 \text{ mg/kg BB} \times 70 \text{ kg} = 5250 \text{ mg}$$

$$5250 \text{ mg} \times 0,018 = 94,5 \text{ mg/200 g BB}$$

$$= 0,473 \text{ mg/g BB}$$

L.4.2 Perhitungan Dosis dan Jumlah Ekstrak Larutan Uji

Rumus: Dosis x berat badan tikus

Jumlah sampel tiap kelompok perlakuan x Dosis x 14 hari

Keterangan: berat badan tikus = 200 gram

Jumlah sampel tiap kelompok perlakuan = 5

Dosis 1 = 0,157 mg/g BB

$$= 0,157 \text{ mg/g BB} \times 200 \text{ gr} = 31,5 \text{ mg}$$

$$= 5 \times 31,5 \text{ mg/mL} \times 14$$

$$= 2205 \text{ mg}$$

Dosis 2 = 0,315 mg/g BB

$$= 0,315 \text{ mg/g BB} \times 200 \text{ gr} = 63 \text{ mg}$$

$$= 5 \times 63 \text{ mg/mL} \times 14$$

$$= 4410 \text{ mg}$$

Dosis 3 = 0,473 mg/g BB

$$= 0,473 \text{ mg/g BB} \times 200 \text{ gr} = 94,5 \text{ mg}$$

$$= 5 \times 94,5 \text{ mg/mL} \times 14$$

$$= 6615 \text{ mg}$$

Keterangan:

Angka 5 : jumlah sampel tiap kelompok perlakuan

Angka 14 : jumlah hari terapi

Sehingga,

- Jumlah total ekstrak untuk uji antidiabetes adalah $13230 \text{ mg} = 13,23 \text{ g}$
- Jumlah total ekstrak untuk uji fitokimia adalah:

Pembuatan ekstrak umbi binahong 10.000 ppm:

$$10.000 \text{ ppm} = \frac{10.000 \text{ mg}}{1 \text{ L}} = \frac{10.000 \text{ mg}}{1000 \text{ mL}} = \frac{100 \text{ mg}}{10 \text{ mL}}$$

Ekstrak pekat yang diperoleh ditimbang sebanyak 100 mg kemudian diencerkan dengan 10 mL pelarut etanol 70 %. Kemudian dihomogenkan dengan pengadukan menggunakan pengaduk gelas, sehingga diperoleh ekstrak dengan konsentrasi 10.000 ppm (ekstrak yang lebih encer sehingga mempermudah dalam identifikasi kualitatif dengan reagen tertentu). Perbandingan (100 mg : 10 mL)

digunakan karena apabila menggunakan (10 mg : 1 mL) banyak terdapat eror dalam proses penimbangan dengan neraca analitik dimana menggunakan satuan mg yang merupakan nilai yang sangat kecil.

1. Uji Alkaloid = 0,5 mL
2. Uji Flavonoid = 0,5 mL
3. Uji Tanin = 0,5 mL
4. Uji Saponin = 0,5 mL
5. Uji Triterpenoid = 0,5 mL

Jadi jumlah total ekstrak yang dibutuhkan adalah **100 mg**.

Maka, dapat diperkirakan jumlah keseluruhan ekstrak yang dibutuhkan adalah:

$$13230 \text{ mg} + 100 \text{ mg} = 13330 \text{ mg} = \mathbf{13,33 \text{ gr}}$$

Umbi binahong yang dibutuhkan = $13,33 \times 100/10 = 133,3 \text{ g} = \mathbf{200 \text{ g}}$ serbuk umbi binahong kering.

L.4.3 Perhitungan Glibenklamid

Glibenklamid = 5 mg/hari

$$\begin{aligned} 5 \text{ mg} \times 0,018 &= 0,09 \text{ mg}/200 \text{ g BB} \\ &= 0,00045 \text{ mg/g BB} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \mathbf{\text{Glibenklamid}} &= 0,00045 \text{ mg/g BB} \\ &= 0,00045 \text{ mg/g BB} \times 200 \text{ gr} = 0,09 \text{ mg} \\ &= 5 \times 0,09 \times 14 \\ &= \mathbf{6,3 \text{ mg}} \end{aligned}$$

Keterangan:

Angka 5 : jumlah sampel tiap kelompok perlakuan

Angka 14 : jumlah hari terapi

L.4.4 Perhitungan Penggunaan Aloksan

Dosis aloksan yang digunakan adalah 32 mg/200 gBB, sehingga dibutuhkan:

Rumus jumlah aloksan : Dosis x jumlah tikus × 2 hari

Keterangan: berat badan tikus = 200 gram

Jumlah sampel = 20

$$\begin{aligned}\text{Jumlah Aloksan} &= 32 \times 25 \times 2 \\ &= 1600 \text{ mg}\end{aligned}$$



Lampiran 5. Perhitungan Kadar Air

1. Data Pengukuran Kadar Air Sampel Kering Umbi Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis)

Ulangan cawan	Berat Cawan Kosong (gr)						Rata-rata
	Sebelum dioven	P1	P2	P3	P4	P5	
B1		54,674	54,675	54,675	54,673	54,673	54,673
B2		53,830	53,829	53,828	53,826	53,826	53,826
B3		56,434	56,434	56,433	56,431	56,431	56,431

Ulangan sampel	Berat Cawan+Sampel (gr)						Rata-rata berat konstan
	Sebelum dioven	P1	P2	P3	P4	P5	
B1	59,672	59,378	59,359	59,352	59,352	59,352	59,352
B2	58,831	58,529	58,514	58,509	58,501	58,500	58,503
B3	61,432	61,141	61,121	61,114	61,111	61,110	61,112

Keterangan: - P= Perlakuan

- Tanda merah menunjukkan angka yang sudah konstan (2 angka dibelakang koma sama)

1.1 Perhitungan kadar air sampel kering

Adapun rumus perhitungan kadar air adalah:

$$\text{Kadar air} = \frac{(b-c)}{(b-a)} \times 100\%$$

Keterangan:

a = berat cawan kosong

b = berat cawan + sampel sebelum dikeringkan

c = berat cawan konstan+ sampel setelah dikeringkan

$$\text{Faktor koreksi} = \frac{100}{100\% - \% \text{ kadar air}}$$

% kadar air terkoreksi = Kadar air – faktor koreksi

a. Ulangan ke 1 (B1)

$$\begin{aligned} \text{Kadar air} &= \frac{(b-c)}{(b-a)} \times 100\% \\ &= \frac{(59,672-59,352)}{(59,672-54,673)} \times 100\% \\ &= \frac{(0,320)}{(4,999)} \times 100\% \\ &= 6,40 \% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Faktor koreksi} &= \frac{100}{100\% - \% \text{ kadar air}} \\
 &= \frac{100}{100\% - 6,40\%} \\
 &= \frac{100}{93,6\%} \\
 &= 1,07\%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \% \text{ Kadar air terkoreksi} &= \text{Kadar air} - \text{faktor koreksi} \\
 &= 6,40\% - 1,07\% \\
 &= 5,33\%
 \end{aligned}$$

b. Ulangan ke 2 (B2)

$$\begin{aligned}
 \text{Kadar air} &= \frac{(b-c)}{(b-a)} \times 100\% \\
 &= \frac{(58,831 - 58,503)}{(58,503 - 53,826)} \times 100\% \\
 &= \frac{(0,328)}{(5,005)} \times 100\% \\
 &= 6,55\%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Faktor koreksi} &= \frac{100}{100\% - \% \text{ kadar air}} \\
 &= \frac{100}{100\% - 6,55\%} \\
 &= \frac{100}{93,45\%} \\
 &= 1,07\%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \% \text{ Kadar air terkoreksi} &= \text{Kadar air} - \text{faktor koreksi} \\
 &= 6,55\% - 1,07\% \\
 &= 5,48\%
 \end{aligned}$$

c. Ulangan ke 3 (B3)

$$\begin{aligned}
 \text{Kadar air} &= \frac{(b-c)}{(b-a)} \times 100\% \\
 &= \frac{(61,432 - 61,112)}{(61,432 - 56,431)} \times 100\% \\
 &= \frac{(0,320)}{(5,001)} \times 100\% \\
 &= 6,40\%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Faktor koreksi} &= \frac{100}{100\% - \% \text{ kadar air}} \\
 &= \frac{100}{100\% - 6,40\%} \\
 &= \frac{100}{93,6\%} \\
 &= 1,07\%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \% \text{ Kadar air terkoreksi} &= \text{Kadar air} - \text{faktor koreksi} \\ &= 6,40 \% - 1,07 \% \\ &= 5,33 \% \end{aligned}$$

➤ Hasil rata-rata kadar air dari ulangan ke 1 sampai ulangan ke 3 adalah:

$$\begin{aligned} \text{Rata-rata kadar air} &= \frac{6,40 \% + 6,55 \% + 6,40 \%}{3} \\ &= 6,45\% \end{aligned}$$

➤ Hasil rata-rata faktor koreksi dari ulangan ke 1 sampai ulangan ke 3 adalah:

$$\begin{aligned} \text{Rata-rata faktor koreksi} &= \frac{1,07 \% + 1,07 \% + 1,07 \%}{3} \\ &= 1,07\% \end{aligned}$$

➤ Hasil rata-rata kadar air terkoreksi dari ulangan ke 1 sampai ulangan ke 3 adalah:

$$\begin{aligned} \text{Rata-rata kadar air terkoreksi} &= \frac{5,33 \% + 5,48 \% + 5,33 \%}{3} \\ &= 5,38\% \end{aligned}$$

Kadar air yang terkandung pada sampel kering umbi binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steeni) pada setiap pengulangannya adalah:

Sampel	Kadar air yang terkandung dalam sampel			
	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	Rata-rata
Umbi Binahong	5,33 %	5,48 %	5,33 %	5,38 %

Lampiran 6. Perhitungan Rendemen

L.6.1 Ekstrak Pekat Etanol 70 %

Diketahui:

Berat gelas vial kosong = 94,7998 gram

Berat gelas vial + ekstrak pekat = 142,2698 gram

Berat sampel = 47,47 gram

$$\begin{aligned} \text{Rendemen} &= \frac{\text{berat ekstrak}}{\text{berat sampel}} \times 100 \% \\ &= \frac{47,47 \text{ gram}}{500,0061 \text{ gram}} \times 100 \% \\ &= 9,49 \% \end{aligned}$$

L.6.2 Ekstrak Hasil Hidrolisis

Diketahui:

Berat gelas vial kosong = 89,9275 gram

Berat gelas vial + ekstrak pekat = 100,8098 gram

Berat sampel = 6,01 gram

$$\begin{aligned} \text{Rendemen} &= \frac{\text{berat ekstrak}}{\text{berat sampel}} \times 100 \% \\ &= \frac{6,01 \text{ gram}}{8,02 \text{ gram}} \times 100 \% \\ &= 74,94 \% \end{aligned}$$

Lampiran 7. Uji analisis variasi (ANAVA) satu arah terhadap kadar glukosa darah kelompok hewan uji

Tujuan : untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan data terhadap kadar glukosa darah seluruh kelompok hewan uji

Hipotesis: H₀ = data kadar glukosa darah tikus tidak berbeda secara bermakna

H₁ data kadar glukosa tikus berbeda secara bermakna α : 0,05

pengambilan kesimpulan: H₀ diterima jika nilai signifikansi $> 0,05$ dan $F_{hitung} < F_{tabel}$

H₀ ditolak jika nilai signifikansi $< 0,05$ dan $F_{hitung} > F_{tabel}$

Hari	Signifikasi	Hipotesis	Kesimpulan
0	0,155	H ₀ diterima	Tidak ada perbedaan bermakna
1	0,000	H ₀ ditolak	Ada perbedaan bermakna
7	0,000	H ₀ ditolak	Ada perbedaan bermakna
14	0,000	H ₀ ditolak	Ada perbedaan bermakna

1. Uji analisis variasi (ANAVA) satu arah terhadap kadar glukosa darah kelompok hewan uji hari ke-0
 - a. Uji analisis variasi (ANAVA) satu arah terhadap kadar glukosa darah kelompok hewan uji hari ke-0 secara manual

Tikus	Kontrol						
	No1	Negatif	Positif	Glibeklamid	Dosis I	Dosis II	Dosis III
1	137	105	109	94	106	92	86
2	126	109	68	106	78	76	61
3	113	79	69	95	106	128	118
4	121	113	102	113	140	77	87
Total	497	406	348	408	430	373	352
Rata-rata	124,25	101,5	87	102	107,5	93,25	88

$$\bar{x}_G = \frac{497 + 406 + 348 + 408 + 430 + 373 + 352}{28}$$

$$\bar{x}_G = 100,5$$

Solusi menghitung variasi antar kelompok (SST)

$$SST = \sum_{k=1} n_k (\bar{x}_k - \bar{x}_G)^2$$

$$\begin{aligned} SST = & (4 \times (124,25 - 100,5)^2) + (4 \times (101,5 - 100,5)^2) + (4 \\ & \times (87 - 100,5)^2) + (4 \times (102 - 100,5)^2) + (4 \\ & \times (107,5 - 100,5)^2) + (4 \times (93,25 - 100,5)^2) + (4 \times (88 \\ & - 100,5)^2) \end{aligned}$$

$$SST = 4029,5$$

Solusi menghitung variasi dalam kelompok (SSE) $(x - \bar{x})^2$

Tikus	Kontrol						
	Nol	Negatif	Positif	Glibeklamid	Dosis I	Dosis II	Dosis III
1	162,56	12,25	484	64	2,25	1,56	4
2	3,06	56,25	361	16	870,25	297,56	729
3	126,56	506,25	324	49	2,25	1207,56	900
4	10,56	132,25	225	121	1056,25	264,06	1
Total	302,74	707	1394	250	1931	1770,74	1634

$$SSE = 302,74 + 707 + 1394 + 250 + 1931 + 1770,74 + 1634$$

$$SSE = 7989,5$$

$$SS_{\text{total}} = SST + SSE$$

$$SS_{\text{total}} = 4029,5 + 7989,5$$

$$SS_{\text{total}} = 12019$$

Solusi ringkasan hitungan:

$$\text{Variasi antar kelompok (SST)} = 4029,5, V_1 = 6$$

$$MST = \frac{SST}{V_1}$$

$$MST = 671,8$$

Variasi dalam group (SSE) = 142913,96, $V_2 = 21$

$$MSE = \frac{SSE}{V_2}$$

$$MSE = 380,45$$

$$F_{hitung} = \frac{MST}{MSE}$$

$$F_{hitung} = 1,76$$

TABEL ANOVA

Sumber Variasi	Sum of square	Derajat Kebebasan	Mean Square	F_{hitung}	F_{tabel}
Treatment (antar kelompok)	4029,5	6	671,8	1,76	2,57
Error (dalam kelompok)	7989,5	21	380,45		
Total	12019	27			

- b. Uji analisis variasi (ANAVA) satu arah terhadap kadar glukosa darah kelompok hewan uji hari ke-0 dengan menggunakan SPSS 16.00

ANOVA

Kadar Glukosa	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	4029.500	6	671.583	1.765	.155
Within Groups	7989.500	21	380.452		
Total	12019.000	27			

2. Uji analisis variasi (ANOVA) satu arah terhadap kadar glukosa darah kelompok hewan uji hari ke-1
 - a. Uji analisis variasi (ANOVA) satu arah terhadap kadar glukosa darah kelompok hewan uji hari ke-1 secara manual

Tikus	Kontrol						
	Nol	Negatif	Positif	Glibeklamid	Dosis I	Dosis II	Dosis III
1	105	100	392	328	457	463	350
2	107	63	400	309	522	429	488
3	115	151	513	310	513	317	336
4	118	143	475	437	443	464	600
Total	445	457	1780	1384	1935	1673	1774
Rata-rata	111,25	114,25	445	346	483,75	418,25	443,5

$$\bar{x}_G = \frac{445 + 457 + 1780 + 1384 + 1935 + 1673 + 1774}{28}$$

$$\bar{x}_G = 337,43$$

Solusi menghitung variasi antar kelompok (SST)

$$SST = \sum_{k=1} n_k (\bar{x}_k - \bar{x}_G)^2$$

$$\begin{aligned} SST = & (4 \times (111,25 - 337,43)^2) + (4 \times (114,25 - 337,43)^2) + (4 \\ & \times (445 - 337,43)^2) + (4 \times (346 - 337,43)^2) + (4 \\ & \times (483,75 - 337,43)^2) + (4 \times (418,25 - 337,43) + (4 \\ & \times (443,5 - 337,43)^2) \end{aligned}$$

$$SST = 607214,86$$

Solusi menghitung variasi dalam kelompok (SSE) $(x - \bar{x})^2$

Tikus	Kontrol						
	Nol	Negatif	Positif	Glibeklamid	Dosis I	Dosis II	Dosis III
1	39,06	203,06	2809	324	715,56	2002,56	8742,25
2	18,06	2626,56	2025	1369	1463,06	115,56	1980,25
3	14,06	1350,56	4624	1296	855,56	10251,56	11556,25
4	45,56	826,56	900	8281	1660,56	2093,06	24492,25
Total	116,74	5006,74	10358	11270	4694,74	14462,74	46771

$$SSE = 116,74 + 5006,74 + 10358 + 11270 + 4694,74 + 14462,74 + 46771$$

$$SSE = 92679,96$$

$$SS_{\text{total}} = SST + SSE$$

$$SS_{\text{total}} = 607214,86 + 92679,96$$

$$SS_{\text{total}} = 699894,82$$

Solusi ringkasan hitungan

$$\text{Variasi antar kelompok (SST)} = 607214,86, V_1 = 6$$

$$MST = \frac{SST}{V_1}$$

$$MST = 101202,48$$

$$\text{Variasi dalam group (SSE)} = 92679,96, V_2 = 21$$

$$MSE = \frac{SSE}{V_2}$$

$$MSE = 4413,33$$

$$F_{\text{hitung}} = \frac{MST}{MSE}$$

$$F_{\text{hitung}} = 22,93$$

TABEL ANOVA

Sumber Variasi	Sum of square	Derajat Kebebasan	Mean Square	F _{hitung}	F _{tabel}
Treatment (antar kelompok)	607214,86	6	101202,48	22,93	2,57
Error (dalam kelompok)	92679,96	21	4413,33		
Total	699894,82	27			

- b. Uji analisis variasi (ANAVA) satu arah terhadap kadar glukosa darah kelompok hewan uji hari ke-1 dengan menggunakan SPSS 16.00

ANOVA

Kadar Glukosa					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	607214.857	6	101202.476	22.931	.000
Within Groups	92680.000	21	4413.333		
Total	699894.857	27			

3. Uji analisis variasi (ANAVA) satu arah terhadap kadar glukosa darah kelompok hewan uji hari ke-7
- a. Uji analisis variasi (ANAVA) satu arah terhadap kadar glukosa darah kelompok hewan uji hari ke-7 secara manual

Tikus	Kontrol						
	Nol	Negatif	Positif	Glibeklamid	Dosis I	Dosis II	Dosis III
1	67	83	336	555	455	414	270
2	98	60	247	470	380	292	329
3	101	69	282	270	298	152	147
4	91	85	349	505	397	113	438
Total	357	297	1214	1800	1530	971	1184
Rata-rata	89,25	74,25	303,5	450	382,5	242,75	296

$$\bar{x}_G = \frac{(357 + 297 + 1214 + 1800 + 1530 + 971 + 1184)}{28}$$

$$\bar{x}_G = 262,61$$

Solusi menghitung variasi antar kelompok (SST)

$$SST = \sum_{k=1} n_k (\bar{x}_k - \bar{x}_G)^2$$

$$\begin{aligned} SST = & (4 \times (89,25 - 262,61)^2) + (4 \times (74,25 - 262,61)^2) + (4 \\ & \times (303,5 - 262,61)^2) + (4 \times (450 - 262,61)^2) + (4 \\ & \times (382,5 - 262,61)^2) + (4 \times (242,75 - 262,61)^2) + (4 \times (296 \\ & - 262,61)^2) \end{aligned}$$

$$SST = 472812,44$$

Solusi menghitung variasi dalam kelompok (SSE) $(x - \bar{x})^2$

Tikus	Kontrol						
	NoI	Negatif	Positif	Glibeklamid	Dosis I	Dosis II	Dosis III
1	495,06	76,56	1056,25	11025	5256,25	29326,5	676
2	76,56	203,06	3192,25	400	6,25	2425,56	1089
3	138,06	27,56	462,25	32400	7140,25	8235,56	22201
4	3,06	115,56	2070,25	3025	210,25	16835,06	20164
Total	712,74	422,74	6781	46850	12613	56822,74	44130

$$SSE = 712,74 + 422,74 + 6781 + 46850 + 12613 + 56822,74 + 44130$$

$$SSE = 168322,22$$

$$SS_{\text{total}} = SST + SSE$$

$$SS_{\text{total}} = 472812,44 + 168322,22$$

$$SS_{\text{total}} = 641134,66$$

Solusi ringkasan hitungan

$$\text{Variasi antar kelompok (SST)} = 472812,44, V_1 = 6$$

$$MST = \frac{SST}{V_1}$$

$$MST = 78802,07$$

Variasi dalam group (SSE) = 168322,22, $V_2 = 21$

$$MSE = \frac{SSE}{V_2}$$

$$MSE = 8015,34$$

$$F_{hitung} = \frac{MST}{MSE}$$

$$F_{hitung} = 9,83$$

TABEL ANOVA

Sumber Variasi	Sum of square	Derajat Kebebasan	Mean Square	F_{hitung}	F_{tabel}
Treatment (antar kelompok)	472812,44	6	78802,07	9,83	2,57
Error (dalam kelompok)	168322,22	21	8015,34		
Total	641134,66	27			

- b. Uji analisis variasi (ANAVA) satu arah terhadap kadar glukosa darah kelompok hewan uji hari ke-7 dengan menggunakan SPSS 16.00

ANOVA

Kadar Glukosa	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	472812.429	6	78802.071	9.831	.000
Within Groups	168332.250	21	8015.821		
Total	641144.679	27			

4. Uji analisis variasi (ANOVA) satu arah terhadap kadar glukosa darah kelompok hewan uji hari ke-14
- a. Uji analisis variasi (ANOVA) satu arah terhadap kadar glukosa darah kelompok hewan uji hari ke-14 secara manual

Tikus	Kontrol						
	Nol	Negatif	Positif	Glibeklamid	Dosis I	Dosis II	Dosis III
1	122	125	342	475	211	404	108
2	122	120	398	313	198	292	74
3	117	120	522	359	146	134	96
4	88	122	388	200	146	216	269
Total	449	487	1650	1347	701	1046	547
Rata-rata	112,25	121,75	412,5	336,75	175,25	261,5	136,75

$$\bar{x}_G = \frac{(449 + 487 + 1650 + 1347 + 701 + 1046 + 547)}{28}$$

$$\bar{x}_G = 222,39$$

Solusi menghitung variasi antar kelompok (SST)

$$SST = \sum_{k=1} n_k (\bar{x}_k - \bar{x}_G)^2$$

$$\begin{aligned} SST = & (4 \times (112,5 - 222,39)^2) + (4 \times (121,75 - 222,39)^2) + (4 \\ & \times (412,5 - 222,39)^2) + (4 \times (336,75 - 222,39)^2) + (4 \\ & \times (175,25 - 222,39)^2) + (4 \times (261,5 - 222,39)^2) + (4 \times (136,75 \\ & - 222,39)^2) \end{aligned}$$

$$SST = 330260,94$$

Solusi menghitung variasi dalam kelompok (SSE) $(x - \bar{x})^2$

Tikus	Kontrol						
	Nol	Negatif	Positif	Glibeklamid	Dosis I	Dosis II	Dosis III
1	95,06	10,56	4970,25	19113,06	1278,06	20306,25	826,56
2	95,06	3,06	210,25	564,06	517,56	930,25	3937,56
3	22,56	3,06	11990,25	495,06	855,56	16256,25	1660,56
4	588,06	0,06	600,25	18700,56	855,56	2070,25	17490,06
Total	800,74	16,74	17771	38872,74	3506,74	39563	23914,75

$$SSE = 800,74 + 16,74 + 1777,1 + 38872,74 + 3506,74 + 39563 + 23914,75$$

$$SSE = 124445,70$$

$$SS_{total} = SST + SSE$$

$$SS_{total} = 330260,94 + 124445,70$$

$$SS_{total} = 454706,64$$

Solusi ringkasan hitungan

$$\text{Variasi antar kelompok (SST)} = 330260,94, V_1 = 6$$

$$MST = \frac{SST}{V_1}$$

$$MST = 55044,33$$

$$\text{Variasi dalam group (SSE)} = 124445,70, V_2 = 21$$

$$MSE = \frac{SSE}{V_2}$$

$$MSE = 5925,99$$

$$F_{hitung} = \frac{MST}{MSE}$$

$$F_{hitung} = 9,288$$

TABEL ANOVA

Sumber Variasi	Sum of square	Derajat Kebebasan	Mean Square	F _{hitung}	F _{tabel}
Treatment (antar kelompok)	330260,94	6	55044,33	9,288	2,57
Error (dalam kelompok)	124445,70	21	5925,99		
Total	454706,64	27			

- b. Uji analisis variasi (ANAVA) satu arah terhadap kadar glukosa darah kelompok hewan uji hari ke-14 dengan menggunakan SPSS 16.00

ANOVA					
Kadar Glukosa	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	330260.929	6	55043.488	9.288	.000
Within Groups	124445.750	21	5925.988		
Total	454706.679	27			

c.

**Lampiran 8. Uji Tuckey terhadap kadar glukosa darah kelompok hewan uji
(SPSS 16.0)**

Tujuan : untuk mengetahui letak perbedaan data kadar glukosa darah antar kelompok hewan uji

Hupotesis : $H_0 =$ Data kadar glukosa darah tikus tidak memiliki perbedaan

$H_1 =$ Data kadar glukosa darah tikus memiliki perbedaan

$\alpha = 0,05$

pengambilan kesimpulan: H_0 diterima jika nilai signifikasi $\geq 0,05$ dan $Q < r$ tabel

H_0 ditolak jika kadar signifikasi $< 0,05$ dan $Q >$

1. Uji Tuckey terhadap kadar glukosa darah hari ke-0
 - a. Uji Tuckey terhadap kadar glukosa darah hari ke-0 secara manual

Matriks korelasi dari masing-masing variabel:

	Positif	Dosis 3	Dosis 2	Negatif	Obat	Dosis 1	Nol
\bar{x}	87	88	93,25	101,5	102	107,5	124,25
Positif	0	1	6,25	14,5	15	20,5	37,25
Dosis 3		0	5,25	13,5	14	19,5	36,25
Dosis 2			0	8,25	8,75	14,25	31
Negatif				0	0,5	6	22,75
Obat					0	5,5	22,25
Dosis 1						0	16,75
Nol							0

Mencari nilai Q hitung.

	Positif	Dosis 3	Dosis 2	Negatif	Obat	Dosis 1	Nol
$Q = \frac{\bar{x}_i - \bar{x}_j}{\sqrt{MS_w/n}}$	0,1	0,64	1,49	1,54	2,10	3,82	
		0,53	1,38	1,44	2	3,72	
			0,85	0,90	1,46	3,18	
				0,05	0,62	2,33	
					0,56	2,28	
						1,72	

	Positif	Dosis 3	Dosis 2	Negatif	Obat	Dosis 1	Nol
\bar{x}	87	88	93,25	101,5	102	107,5	124,25
Positif		0,1	0,64	1,49	1,54	2,10	3,82
Dosis 3			0,53	1,38	1,44	2	3,72
Dosis 2				0,85	0,90	1,46	3,18
Negatif					0,05	0,62	2,33
Obat						0,56	2,28
Dosis 1							1,72

Dengan memperhatikan nilai Q dibandingkan dengan nilai r tabel, dimana r adalah jumlah means. Dalam kasus ini, jumlah kolom adalah 7. Adapun derajat kebebasan adalah 21. Didapatkan nilai r tabel adalah 3,90 dengan tingkat kepercayaan 0,05. Menunjukkan bahwa nilai Q hitung masih di bawah nilai r tabel sehingga dapat disimpulkan bahwa tidak ada perbedaan kadar glukosa darah pada tiap-tiap kelompok.

- b. Uji Tuckey terhadap kadar glukosa darah hari ke-0 dengan menggunakan SPSS 16.00

Multiple Comparisons

Kadar Glukosa

Tukey HSD

(I) Jenis Kelompok	(J) Jenis Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Kontrol Nol	Kontrol Negatif	22.75000	13.79225	.654	-22.0856	67.5856
	Kontrol Positif	37.25000	13.79225	.147	-7.5856	82.0856
	Kontrol Obat	22.25000	13.79225	.676	-22.5856	67.0856
	Dosis 1	16.75000	13.79225	.881	-28.0856	61.5856
	Dosis 2	31.00000	13.79225	.313	-13.8356	75.8356
	Dosis 3	36.25000	13.79225	.167	-8.5856	81.0856
Kontrol Negatif	Kontrol Nol	-22.75000	13.79225	.654	-67.5856	22.0856
	Kontrol Positif	14.50000	13.79225	.935	-30.3356	59.3356
	Kontrol Obat	-.50000	13.79225	1.000	-45.3356	44.3356
	Dosis 1	-6.00000	13.79225	.999	-50.8356	38.8356
	Dosis 2	8.25000	13.79225	.996	-36.5856	53.0856
	Dosis 3	13.50000	13.79225	.953	-31.3356	58.3356
Kontrol Positif	Kontrol Nol	-37.25000	13.79225	.147	-82.0856	7.5856
	Kontrol Negatif	-14.50000	13.79225	.935	-59.3356	30.3356

	Kontrol Obat	-15.00000	13.79225	.925	-59.8356	29.8356
	Dosis 1	-20.50000	13.79225	.749	-65.3356	24.3356
	Dosis 2	-6.25000	13.79225	.999	-51.0856	38.5856
	Dosis 3	-1.00000	13.79225	1.000	-45.8356	43.8356
Kontrol Obat	Kontrol Nol	-22.25000	13.79225	.676	-67.0856	22.5856
	Kontrol Negatif	.50000	13.79225	1.000	-44.3356	45.3356
	Kontrol Positif	15.00000	13.79225	.925	-29.8356	59.8356
	Dosis 1	-5.50000	13.79225	1.000	-50.3356	39.3356
	Dosis 2	8.75000	13.79225	.995	-36.0856	53.5856
	Dosis 3	14.00000	13.79225	.945	-30.8356	58.8356
Dosis 1	Kontrol Nol	-16.75000	13.79225	.881	-61.5856	28.0856
	Kontrol Negatif	6.00000	13.79225	.999	-38.8356	50.8356
	Kontrol Positif	20.50000	13.79225	.749	-24.3356	65.3356
	Kontrol Obat	5.50000	13.79225	1.000	-39.3356	50.3356
	Dosis 2	14.25000	13.79225	.940	-30.5856	59.0856
	Dosis 3	19.50000	13.79225	.789	-25.3356	64.3356
Dosis 2	Kontrol Nol	-31.00000	13.79225	.313	-75.8356	13.8356
	Kontrol Negatif	-8.25000	13.79225	.996	-53.0856	36.5856
	Kontrol Positif	6.25000	13.79225	.999	-38.5856	51.0856
	Kontrol Obat	-8.75000	13.79225	.995	-53.5856	36.0856
	Dosis 1	-14.25000	13.79225	.940	-59.0856	30.5856
	Dosis 3	5.25000	13.79225	1.000	-39.5856	50.0856
Dosis 3	Kontrol Nol	-36.25000	13.79225	.167	-81.0856	8.5856
	Kontrol Negatif	-13.50000	13.79225	.953	-58.3356	31.3356
	Kontrol Positif	1.00000	13.79225	1.000	-43.8356	45.8356
	Kontrol Obat	-14.00000	13.79225	.945	-58.8356	30.8356
	Dosis 1	-19.50000	13.79225	.789	-64.3356	25.3356
	Dosis 2	-5.25000	13.79225	1.000	-50.0856	39.5856

Dengan memperhatikan tabel uji tuckey didapatkan nilai signifikasi pada tiap kelompok adalah lebih dari α , sehingga dapat disimpulkan pada hari ke-0 tidak ada perbedaan kadar glukosa darah pada tiap-tiap kelompok.

2. Uji Tuckey terhadap kadar glukosa darah hari ke-1
 - a. Uji Tuckey terhadap kadar glukosa darah hari ke-1 secara manual

Matriks korelasi dari masing-masing variabel:

	Nol	Negatif	Obat	Dosis 2	Dosis 3	Positif	Dosis 1
\bar{x}	111,25	114,25	346	418,25	443,5	445	483,75
Nol	0	3	234,75	307	332,25	333,75	372,5
Negatif		0	231,75	304	329,25	330,75	369,5
Obat			0	72,25	97,5	99	137,75
Dosis 2				0	25,25	26,75	65,5
Dosis 3					0	1,5	40,25
Positif						0	38,75
Dosis 1							0

Mencari nilai Q hitung.

	Nol	Negatif	Obat	Dosis 2	Dosis 3	Positif	Dosis 1
$Q = \frac{\bar{x}_i - \bar{x}_j}{\sqrt{MS_w/n}}$		0,01	7,07	9,24	10,00	10,04	11,21
			6,98	9,15	9,91	9,96	11,12
				2,17	2,93	2,98	4,15
					0,76	0,81	1,97
						0,045	1,21
							1,16

	Nol	Negatif	Obat	Dosis 2	Dosis 3	Positif	Dosis 1
\bar{x}	111,25	114,25	346	418,25	443,5	445	483,75
Nol		0,01	7,07	9,24	10,00	10,04	11,21
Negatif			6,98	9,15	9,91	9,96	11,12
Obat				2,17	2,93	2,98	4,15
Dosis 2					0,76	0,81	1,97
Dosis 3						0,045	1,21
Positif							1,16

Dengan memperhatikan nilai Q dibandingkan dengan nilai r tabel, dimana r adalah jumlah means. Dalam kasus ini, jumlah kolom adalah 7. Adapun derajat kebebasan adalah 21. Didapatkan nilai r tabel adalah 3,90 dengan tingkat kepercayaan 0,05. Dari tabel di atas bahwa yang diberi tanda ■ menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan nilai kadar glukosa darah karena nilai Q hitung < r tabel.

- b. Uji Tuckey terhadap kadar glukosa darah hari ke-1 dengan menggunakan SPSS 16.00

Multiple Comparisons

Dependent Variable:Kadar

Glukosa

	(I) Jenis Kelompok	(J) Jenis Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
Tukey HSD	Kontrol Nol	Kontrol Negatif	-3.00000	46.97517	1.000	-155.7061	149.7061
		Kontrol Positif	333.75000*	46.97517	.000	-486.4561	181.0439
		Kontrol Glibenklamid	234.75000*	46.97517	.001	-387.4561	-82.0439
		Kontrol Dosis 1	372.50000*	46.97517	.000	-525.2061	219.7939
		Kontrol Dosis 2	307.00000*	46.97517	.000	-459.7061	154.2939
		Kontrol Dosis 3	332.25000*	46.97517	.000	-484.9561	179.5439
		Kontrol Negatif	Kontrol Nol	3.00000	46.97517	1.000	-149.7061
Kontrol Negatif	Kontrol Positif	Kontrol Negatif	330.75000*	46.97517	.000	-483.4561	178.0439
		Kontrol Glibenklamid	231.75000*	46.97517	.001	-384.4561	-79.0439
		Kontrol Dosis 1	369.50000*	46.97517	.000	-522.2061	216.7939
		Kontrol Dosis 2	304.00000*	46.97517	.000	-456.7061	151.2939
		Kontrol Dosis 3	329.25000*	46.97517	.000	-481.9561	176.5439
		Kontrol Positif	Kontrol Glibenklamid	Kontrol Nol	333.75000*	46.97517	.000
Kontrol Negatif	330.75000*			46.97517	.000	178.0439	483.4561
Kontrol Glibenklamid	99.00000			46.97517	.384	-53.7061	251.7061

	Kontrol Dosis 1	-38.75000	46.97517	.979	-191.4561	113.9561
	Kontrol Dosis 2	26.75000	46.97517	.997	-125.9561	179.4561
	Kontrol Dosis 3	1.50000	46.97517	1.000	-151.2061	154.2061
Kontrol Glibenklamid	Kontrol Nol	234.75000*	46.97517	.001	82.0439	387.4561
	Kontrol Negatif	231.75000*	46.97517	.001	79.0439	384.4561
	Kontrol Positif	-99.00000	46.97517	.384	-251.7061	53.7061
	Kontrol Dosis 1	-137.75000	46.97517	.095	-290.4561	14.9561
	Kontrol Dosis 2	-72.25000	46.97517	.720	-224.9561	80.4561
	Kontrol Dosis 3	-97.50000	46.97517	.401	-250.2061	55.2061
Kontrol Dosis 1	Kontrol Nol	372.50000*	46.97517	.000	219.7939	525.2061
	Kontrol Negatif	369.50000*	46.97517	.000	216.7939	522.2061
	Kontrol Positif	38.75000	46.97517	.979	-113.9561	191.4561
	Kontrol Glibenklamid	137.75000	46.97517	.095	-14.9561	290.4561
	Kontrol Dosis 2	65.50000	46.97517	.799	-87.2061	218.2061
	Kontrol Dosis 3	40.25000	46.97517	.975	-112.4561	192.9561
Kontrol Dosis 2	Kontrol Nol	307.00000*	46.97517	.000	154.2939	459.7061
	Kontrol Negatif	304.00000*	46.97517	.000	151.2939	456.7061
	Kontrol Positif	-26.75000	46.97517	.997	-179.4561	125.9561
	Kontrol Glibenklamid	72.25000	46.97517	.720	-80.4561	224.9561
	Kontrol Dosis 1	-65.50000	46.97517	.799	-218.2061	87.2061
	Kontrol Dosis 3	-25.25000	46.97517	.998	-177.9561	127.4561
Kontrol Dosis 3	Kontrol Nol	332.25000*	46.97517	.000	179.5439	484.9561
	Kontrol Negatif	329.25000*	46.97517	.000	176.5439	481.9561
	Kontrol Positif	-1.50000	46.97517	1.000	-154.2061	151.2061
	Kontrol Glibenklamid	97.50000	46.97517	.401	-55.2061	250.2061
	Kontrol Dosis 1	-40.25000	46.97517	.975	-192.9561	112.4561
	Kontrol Dosis 2	25.25000	46.97517	.998	-127.4561	177.9561

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

3. Uji Tuckey terhadap kadar glukosa darah hari ke-7
 a. Uji Tuckey terhadap kadar glukosa darah hari ke-7 secara manual

Matriks korelasi dari masing-masing variabel:

	Negatif	Nol	Dosis 2	Dosis 3	Positif	Dosis 1	Obat
\bar{x}	74,25	89,25	242,75	296	303,5	382,5	450
Negatif	0	15	168,5	221,75	229,25	308,25	375,75
Nol		0	153,5	206,75	214,25	293,25	360,75
Dosis 2			0	53,25	60,75	139,75	207,25
Dosis 3				0	7,5	86,5	154
Positif					0	79	146,5
Dosis 1						0	67,5
Obat							0

Mencari nilai Q hitung.

	Negatif	Nol	Dosis 2	Dosis 3	Positif	Dosis 1	Obat
$Q = \frac{\bar{x}_i - \bar{x}_j}{\sqrt{MS_w/n}}$		0,34	3,76	4,95	5,12	6,89	8,39
			3,43	4,62	4,79	6,55	8,06
				1,19	1,36	3,12	4,63
					0,17	1,93	3,44
						1,76	3,27
							0,39

	Negatif	Nol	Dosis 2	Dosis 3	Positif	Dosis 1	Obat
\bar{x}	74,25	89,25	242,75	296	303,5	382,5	450
Negatif		0,34	3,76	4,95	5,12	6,89	8,39
Nol			3,43	4,62	4,79	6,55	8,06
Dosis 2				1,19	1,36	3,12	4,63
Dosis 3					0,17	1,93	3,44
Positif						1,76	3,27
Dosis 1							0,39

Dengan memperhatikan nilai Q dibandingkan dengan nilai r tabel, dimana r adalah jumlah means. Dalam kasus ini, jumlah kolom adalah 7. Adapun derajat kebebasan adalah 21. Didapatkan nilai r tabel adalah 3,90 dengan tingkat kepercayaan 0,05. Dari tabel di atas bahwa yang diberi tanda ■ menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan nilai kadar glukosa darah karena nilai Q hitung < r tabel.

- b. Uji Tuckey terhadap kadar glukosa darah hari ke-1 dengan menggunakan SPSS 16.00

Multiple Comparisons

Dependent Variable:Kadar

Glukosa

) Jenis elompok	(J) Jenis Kelompok	Mean Difference (I- J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
Tukey HSD	Kontrol Nol	Kontrol Negatif	15.00000	63.30806	1.000	-190.8008	220.8008
		Kontrol Positif	-214.25000*	63.30806	.038	-420.0508	-8.4492
		Kontrol Glibenklamid	-360.75000*	63.30806	.000	-566.5508	-154.9492
		Kontrol Dosis 1	-293.25000*	63.30806	.002	-499.0508	-87.4492
		Kontrol Dosis 2	-153.50000	63.30806	.237	-359.3008	52.3008
		Kontrol Dosis 3	-206.75000*	63.30806	.048	-412.5508	-.9492
Kontrol Negatif	Kontrol Nol	Kontrol Positif	-15.00000	63.30806	1.000	-220.8008	190.8008
		Kontrol Glibenklamid	-229.25000*	63.30806	.023	-435.0508	-23.4492
		Kontrol Dosis 1	-375.75000*	63.30806	.000	-581.5508	-169.9492
		Kontrol Dosis 2	-308.25000*	63.30806	.001	-514.0508	-102.4492
		Kontrol Dosis 3	-168.50000	63.30806	.158	-374.3008	37.3008
		Kontrol Dosis 3	-221.75000*	63.30806	.029	-427.5508	-15.9492
Kontrol Positif	Kontrol Nol	Kontrol Negatif	214.25000*	63.30806	.038	8.4492	420.0508
		Kontrol Glibenklamid	229.25000*	63.30806	.023	23.4492	435.0508
		Kontrol Dosis 1	-146.50000	63.30806	.283	-352.3008	59.3008
		Kontrol Dosis 2	-79.00000	63.30806	.867	-284.8008	126.8008
		Kontrol Dosis 3	60.75000	63.30806	.957	-145.0508	266.5508
		Kontrol Dosis 3	7.50000	63.30806	1.000	-198.3008	213.3008
Kontrol Glibenklamid	Kontrol Nol	Kontrol Negatif	360.75000*	63.30806	.000	154.9492	566.5508
		Kontrol Positif	375.75000*	63.30806	.000	169.9492	581.5508
		Kontrol Dosis 1	146.50000	63.30806	.283	-59.3008	352.3008

	Kontrol Dosis 1	67.50000	63.30806	.931	-138.3008	273.3008
	Kontrol Dosis 2	207.25000*	63.30806	.048	1.4492	413.0508
	Kontrol Dosis 3	154.00000	63.30806	.234	-51.8008	359.8008
1	Kontrol Dosis Kontrol Nol	293.25000*	63.30806	.002	87.4492	499.0508
	Kontrol Negatif	308.25000*	63.30806	.001	102.4492	514.0508
	Kontrol Positif	79.00000	63.30806	.867	-126.8008	284.8008
	Kontrol Glibenklamid	-67.50000	63.30806	.931	-273.3008	138.3008
	Kontrol Dosis 2	139.75000	63.30806	.333	-66.0508	345.5508
	Kontrol Dosis 3	86.50000	63.30806	.813	-119.3008	292.3008
2	Kontrol Dosis Kontrol Nol	153.50000	63.30806	.237	-52.3008	359.3008
	Kontrol Negatif	168.50000	63.30806	.158	-37.3008	374.3008
	Kontrol Positif	-60.75000	63.30806	.957	-266.5508	145.0508
	Kontrol Glibenklamid	-207.25000*	63.30806	.048	-413.0508	-1.4492
	Kontrol Dosis 1	-139.75000	63.30806	.333	-345.5508	66.0508
	Kontrol Dosis 3	-53.25000	63.30806	.977	-259.0508	152.5508
Kontrol Dosis 3	Kontrol Nol	206.75000*	63.30806	.048	.9492	412.5508
	Kontrol Negatif	221.75000*	63.30806	.029	15.9492	427.5508
	Kontrol Positif	-7.50000	63.30806	1.000	-213.3008	198.3008
	Kontrol Glibenklamid	-154.00000	63.30806	.234	-359.8008	51.8008
	Kontrol Dosis 1	-86.50000	63.30806	.813	-292.3008	119.3008
	Kontrol Dosis 2	53.25000	63.30806	.977	-152.5508	259.0508

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

4. Uji Tuckey terhadap kadar glukosa darah hari ke-14
 a. Uji Tuckey terhadap kadar glukosa darah hari ke-14 secara manual

Matriks korelasi dari masing-masing variabel:

	Nol	Negatif	Dosis 3	Dosis 1	Dosis 2	Obat	Positif
\bar{x}	112,25	131,75	136,75	175,25	261,5	336,75	412,5
Nol	0	19,5	24,5	63	149,25	224,5	300,25
Negatif		0	5	43,5	129,75	205	280,75
Dosis 3			0	38,5	124,75	200	275,75
Dosis 1				0	86,25	161,5	237,25
Dosis 2					0	75,25	151
Obat						0	75,75
Positif							0

Mencari nilai Q hitung.

	Nol	Negatif	Dosis 3	Dosis 1	Dosis 2	Obat	Positif
$Q = \frac{\bar{x}_i - \bar{x}_j}{\sqrt{MS_w/n}}$		0,51	0,64	1,64	3,88	5,83	7,8
			0,13	1,13	3,37	5,33	7,29
				1,00	3,24	5,20	7,16
					2,24	4,20	6,16
						1,96	3,92
							1,97

	Nol	Negatif	Dosis 3	Dosis 1	Dosis 2	Obat	Positif
\bar{x}	112,25	131,75	136,75	175,25	261,5	336,75	412,5
Nol		0,51	0,64	1,64	3,88	5,83	7,8
Negatif			0,13	1,13	3,37	5,33	7,29
Dosis 3				1,00	3,24	5,20	7,16
Dosis 1					2,24	4,20	6,16
Dosis 2						1,96	3,92
Obat							1,97

Dengan memperhatikan nilai Q dibandingkan dengan nilai r tabel, dimana r adalah jumlah means. Dalam kasus ini, jumlah kolom adalah 7. Adapun derajat kebebasan adalah 21. Didapatkan nilai r tabel adalah 3,90 dengan tingkat kepercayaan 0,05. Dari tabel di atas bahwa yang diberi tanda ■ menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan nilai kadar glukosa darah karena nilai Q hitung < r tabel.

- b. Uji Tuckey terhadap kadar glukosa darah hari ke-14 dengan menggunakan SPSS 16.00

Multiple Comparisons

Dependent Variable:Kadar

Glukosa

	(I) Jenis Kelompok	(J) Jenis Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
Tukey HSD	Kontrol Nol	Kontrol Negatif	-9.50000	54.43339	1.000	-186.4512	167.4512
		Kontrol Positif	-300.25000 [*]	54.43339	.000	-477.2012	-123.2988
		Kontrol Glibenklamid	-224.50000 [*]	54.43339	.007	-401.4512	-47.5488
		Kontrol Dosis 1	-63.00000	54.43339	.902	-239.9512	113.9512
		Kontrol Dosis 2	-149.25000	54.43339	.136	-326.2012	27.7012
		Kontrol Dosis 3	-24.50000	54.43339	.999	-201.4512	152.4512
	Kontrol Negatif	Kontrol Nol	9.50000	54.43339	1.000	-167.4512	186.4512
		Kontrol Positif	-290.75000 [*]	54.43339	.000	-467.7012	-113.7988
		Kontrol Glibenklamid	-215.00000 [*]	54.43339	.011	-391.9512	-38.0488
		Kontrol Dosis 1	-53.50000	54.43339	.952	-230.4512	123.4512
		Kontrol Dosis 2	-139.75000	54.43339	.186	-316.7012	37.2012
		Kontrol Dosis 3	-15.00000	54.43339	1.000	-191.9512	161.9512
	Kontrol Positif	Kontrol Nol	300.25000 [*]	54.43339	.000	123.2988	477.2012
		Kontrol Negatif	290.75000 [*]	54.43339	.000	113.7988	467.7012
		Kontrol Glibenklamid	75.75000	54.43339	.800	-101.2012	252.7012
		Kontrol Dosis 1	237.25000 [*]	54.43339	.004	60.2988	414.2012
		Kontrol Dosis 2	151.00000	54.43339	.128	-25.9512	327.9512
		Kontrol Dosis 3	275.75000 [*]	54.43339	.001	98.7988	452.7012
Kontrol Glibenklamid	Kontrol Nol	224.50000 [*]	54.43339	.007	47.5488	401.4512	
	Kontrol Negatif	215.00000 [*]	54.43339	.011	38.0488	391.9512	
	Kontrol Positif	-75.75000	54.43339	.800	-252.7012	101.2012	
	Kontrol Dosis 1	161.50000	54.43339	.089	-15.4512	338.4512	
	Kontrol Dosis 2	75.25000	54.43339	.805	-101.7012	252.2012	
	Kontrol Dosis 3	200.00000 [*]	54.43339	.020	23.0488	376.9512	

1	Kontrol Dosis	Kontrol Nol	63.00000	54.43339	.902	-113.9512	239.9512
		Kontrol Negatif	53.50000	54.43339	.952	-123.4512	230.4512
		Kontrol Positif	-237.25000*	54.43339	.004	-414.2012	-60.2988
		Kontrol Glibenklamid	-161.50000	54.43339	.089	-338.4512	15.4512
		Kontrol Dosis 2	-86.25000	54.43339	.693	-263.2012	90.7012
		Kontrol Dosis 3	38.50000	54.43339	.991	-138.4512	215.4512
2	Kontrol Dosis	Kontrol Nol	149.25000	54.43339	.136	-27.7012	326.2012
		Kontrol Negatif	139.75000	54.43339	.186	-37.2012	316.7012
		Kontrol Positif	-151.00000	54.43339	.128	-327.9512	25.9512
		Kontrol Glibenklamid	-75.25000	54.43339	.805	-252.2012	101.7012
		Kontrol Dosis 1	86.25000	54.43339	.693	-90.7012	263.2012
		Kontrol Dosis 3	124.75000	54.43339	.293	-52.2012	301.7012
3	Kontrol Dosis	Kontrol Nol	24.50000	54.43339	.999	-152.4512	201.4512
		Kontrol Negatif	15.00000	54.43339	1.000	-161.9512	191.9512
		Kontrol Positif	-275.75000*	54.43339	.001	-452.7012	-98.7988
		Kontrol Glibenklamid	-200.00000*	54.43339	.020	-376.9512	-23.0488
		Kontrol Dosis 1	-38.50000	54.43339	.991	-215.4512	138.4512
		Kontrol Dosis 2	-124.75000	54.43339	.293	-301.7012	52.2012

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Lampiran 9. Uji Duncan terhadap kadar glukosa darah kelompok hewan uji

(SPSS 16.0)

Tujuan : Untuk menentukan dosis optimum dalam menurunkan kadar glukosa darah

Hipotesis: H_0 : Semua kelompok memiliki rerata penurunan kadar glukosa yang sama

H_1 : Semua kelompok tidak memiliki rerata penurunan kadar glukosa yang sama

α : 0,05

pengambilan kesimpulan: H_0 diterima jika nilai signifikansi $> 0,05$

H_0 ditolak jika nilai signifikansi $< 0,05$

1. Perhitungan ANOVA penurunan kadar glukosa darah.
 - a. Perhitungan ANOVA penurunan kadar glukosa darah secara manual.

Tikus	Kontrol						
	Nol	Negatif	Positif	Glibeklamid	Dosis I	Dosis II	Dosis III
1	5	-25	50	-147	241	59	242
2	-15	-57	2	-4	324	137	414
3	-2	31	-9	-49	367	183	240
4	30	21	87	237	297	248	331
Total	18	-30	130	37	1229	627	1227
Rata-rata	4,5	-7,5	32,5	9,25	307,25	156,75	306,75

$$\bar{x}_G = \frac{18 + (-30) + 130 + 37 + 1229 + 627 + 1227}{28}$$

$$\bar{x}_G = 115,64$$

Solusi menghitung variasi antar kelompok (SST)

$$SST = \sum_{k=1} n_k (\bar{x}_k - \bar{x}_G)^2$$

$$\begin{aligned} SST = & (4 \times (4,5 - 115,64)^2) + (4 \times ((-7,5) - 115,64)^2) + (4 \\ & \times (32,5 - 115,64)^2) + (4 \times (9,25 - 115,64)^2) + (4 \\ & \times (307,25 - 115,64)^2) + (4 \times (156,75 - 115,64)^2) + (4 \\ & \times (306,75 - 115,64)^2) \end{aligned}$$

$$SST = 482696,44$$

Solusi menghitung variasi dalam kelompok (SSE) $(x - \bar{x})^2$

Tikus	Kontrol						
	No1	Negatif	Positif	Glibeklamid	Dosis I	Dosis II	Dosis III
1	0,25	306,25	306,25	24414,06	4389,06	9555,06	4192,56
2	380,25	2450,25	930,25	175,56	280,56	390,06	11502,56
3	42,25	1482,25	1722,25	3393,06	3570,06	689,06	4455,56
4	650,25	812,25	2970,25	51870,06	105,06	8326,56	588,06
Total	1073	5051	5929	79852,74	8344,75	18960,75	20738,75

$$SSE = 1073 + 5051 + 5929 + 79852,74 + 8344,75 + 18960,75 + 20738,75$$

$$SSE = 139950$$

$$SS_{\text{total}} = SST + SSE$$

$$SS_{\text{total}} = 482696,44 + 139950$$

$$SS_{\text{total}} = 622646,44$$

Solusi ringkasan hitungan

Variasi antar kelompok (SST) = 482696,44, $V_1 = 6$

$$MST = \frac{SST}{V_1}$$

$$MST = 80449,41$$

Variasi dalam group (SSE) = 139950, $V_2 = 21$

$$MSE = \frac{SSE}{V_2}$$

$$MSE = 6664,29$$

$$F_{hitung} = \frac{MST}{MSE}$$

$$F_{hitung} = 12,07$$

TABEL ANOVA

Sumber Variasi	Sum of square	Derajat Kebebasan	Mean Square	F_{hitung}	F_{tabel}
Treatment (antar kelompok)	482696,44	6	80449,41	12,07	2,57
Error (dalam kelompok)	139950	21	6664,29		
Total	622646,44	27			

- b. Perhitungan ANOVA penurunan kadar glukosa darah dengan menggunakan SPSS 16.00

ANOVA

Kadar Glukosa	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	482696.429	6	80449.405	12.072	.000
Within Groups	139950.000	21	6664.286		
Total	622646.429	27			

Dari hasil analisis emnggunakan ANOVA satu arah didapatkan nilai signifikasi 0,000 yang menunjukkan bahwa, semua kelompok tidak memiliki rerata penurunan kadar glukosa yang sama.

Kemudian dilanjutkan analisis menggunakan Duncan untuk mengetahui dosis yang paling optimum dalam menurunkan kadar glukosa darah.

2. Penentuan dosis optimum dalam menurunkan kadar glukosa darah dengan menggunakan metode Duncan

a. Penentuan dosis optimum dalam menurunkan kadar glukosa darah dengan menggunakan metode Duncan secara manual

1. Diurutkan nilai tengah dari terkecil – terbesar

Perlakuan	Negatif	Nol	Glibeklamid	Positif	Dosis II	Dosis III	Dosis I
Rata-rata	-7,5	4,5	9,25	32,5	156,75	306,75	307,25

$$P = 6$$

$$F = 24$$

Perlakuan	Negatif	Nol	Glibeklamid	Positif	Dosis II	Dosis III	Dosis I
Nilai Jarak	2,94	3,09	3,18	3,25	3,30	3,33	3,36

$$DMRT_{\alpha} = R_{(p,v,\alpha)} \times \sqrt{\frac{MSE}{r}}$$

1. Untuk kontrol negatif

$$DMRT_{0,05} = 2,94 \times \sqrt{\frac{6664,29}{4}}$$

$$DMRT_{0,05} = 120,01$$

2. Untuk kontrol nol

$$DMRT_{0,05} = 3,09 \times \sqrt{\frac{6664,29}{4}}$$

$$DMRT_{0,05} = 126,13$$

3. Untuk kontrol Glibenklamid

$$DMRT_{0,05} = 3,18 \times \sqrt{\frac{6664,29}{4}}$$

$$DMRT_{0,05} = 129,81$$

4. Untuk kontrol positif

$$DMRT_{0,05} = 3,25 \times \sqrt{\frac{6664,29}{4}}$$

$$DMRT_{0,05} = 132,67$$

5. Untuk kontrol dosis 2

$$DMRT_{0,05} = 3,30 \times \sqrt{\frac{6664,29}{4}}$$

$$DMRT_{0,05} = 134,71$$

6. Untuk kontrol dosis 3

$$DMRT_{0,05} = 3,33 \times \sqrt{\frac{6664,29}{4}}$$

$$DMRT_{0,05} = 135,93$$

7. Untuk kontrol dosis 1

$$DMRT_{0,05} = 3,36 \times \sqrt{\frac{6664,29}{4}}$$

$$DMRT_{0,05} = 137,16$$

Perlakuan	Rata-Rata	Notasi
Nol	-7,5	a
Negatif	4,5	a b
Glibenklamid	9,25	a b c
Positif	32,5	a b c d
Dosis II	156,75	d
Dosis III	306,75	e
Dosis I	307,25	e

- b. Penentuan dosis optimum dalam menurunkan kadar glukosa darah dengan menggunakan metode Duncan dengan menggunakan SPSS 16.00

Kadar Glukosa

Duncan

Jenis Kelompok	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
kontrol negatif	4	-7.5000		
kontrol nol	4	4.5000		
kontrol obat	4	9.2500		
kontrol positif	4	32.5000		
dosis 2	4		1.5675E2	
dosis 3	4			3.0675E2
dosis 1	4			3.0725E2
Sig.		.534	1.000	.993

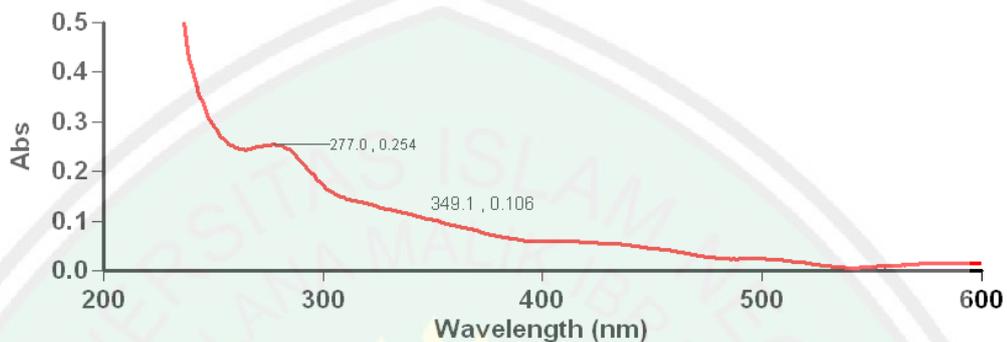
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Dari analisis menggunakan Duncan dosis yang paling optimum dalam menurunkan kadar glukosa darah adalah dosis 1.

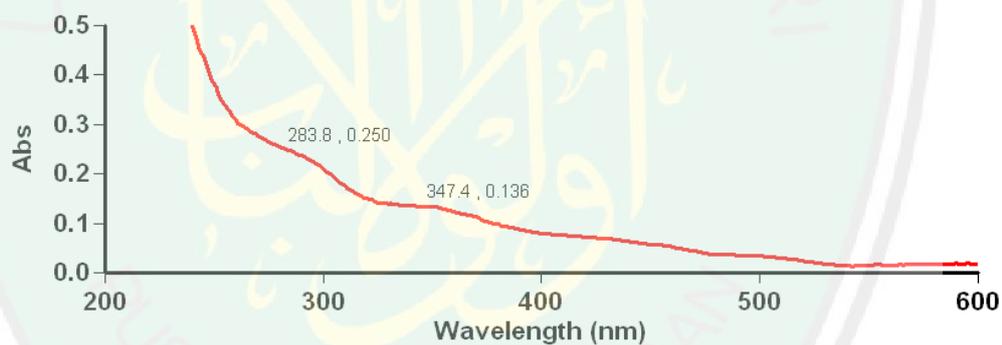
Lampiran 10. Spektra Pergeseran Panjang Gelombang dengan UV-Vis

L.10.1 Isolat 2

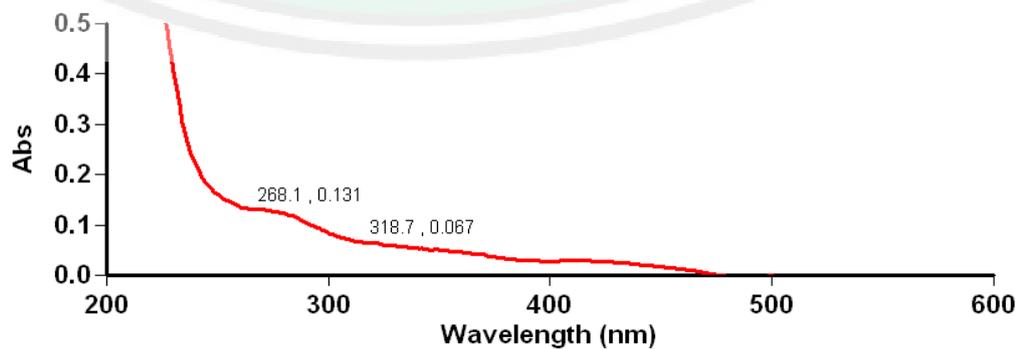
1. Lamdha Maksimum Isolat 2



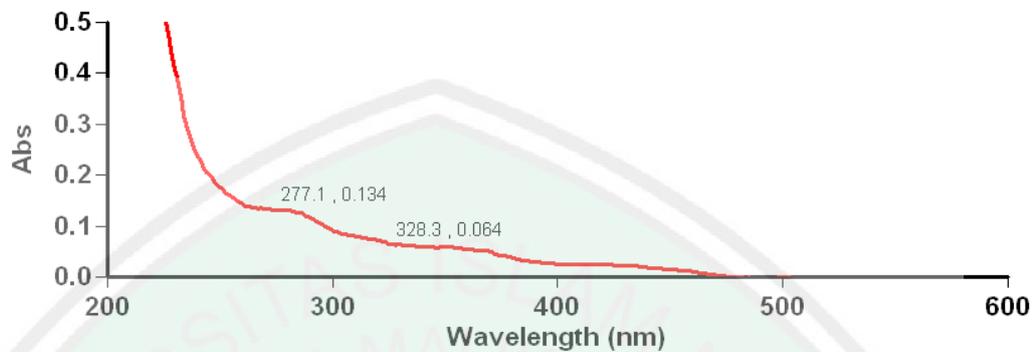
a. Lamdha Maksimum Binahong Isolat 2 + NaOH



2. Lamdha Maksimum Binahong Isolat 2 + AlCl₃



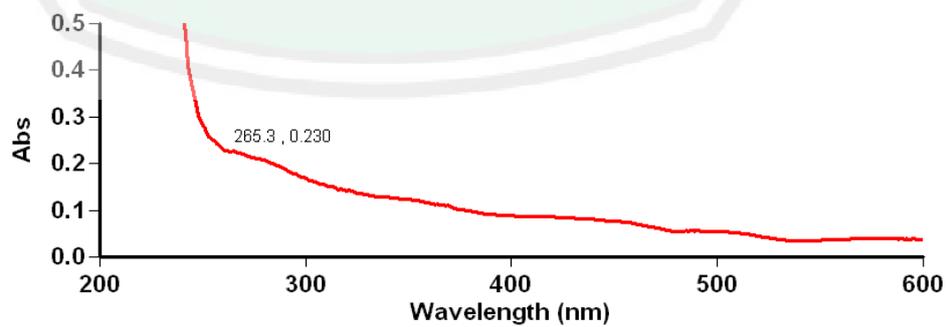
3. Lamdha Maksimum Binahong Isolat 2 + AlCl_3 + HCl



4. Lamdha Maksimum Binahong Isolat 2 + CH_3COONa

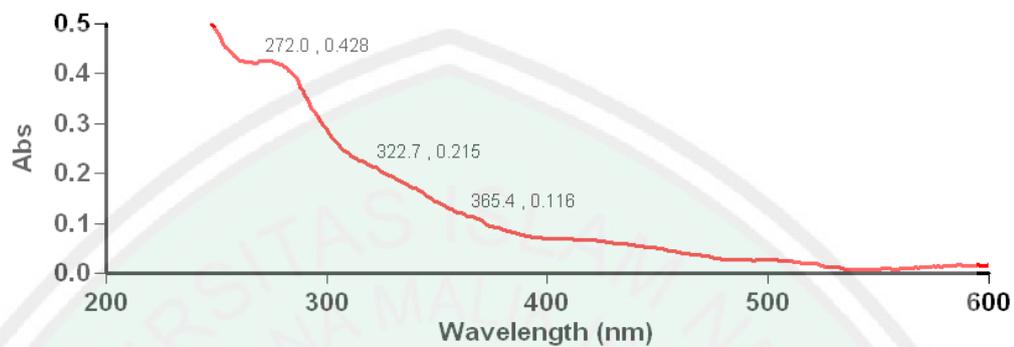


5. Lamdha Maksimum Binahong Isolat 2 + CH_3COONa + HBO_3

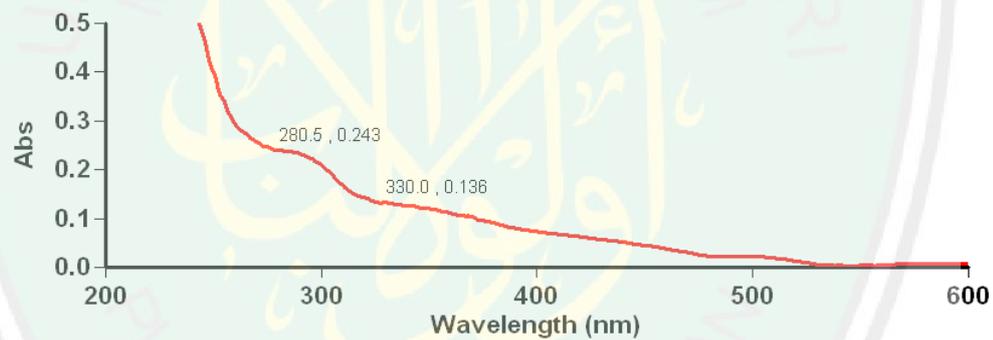


L.10.2 Isolat 4

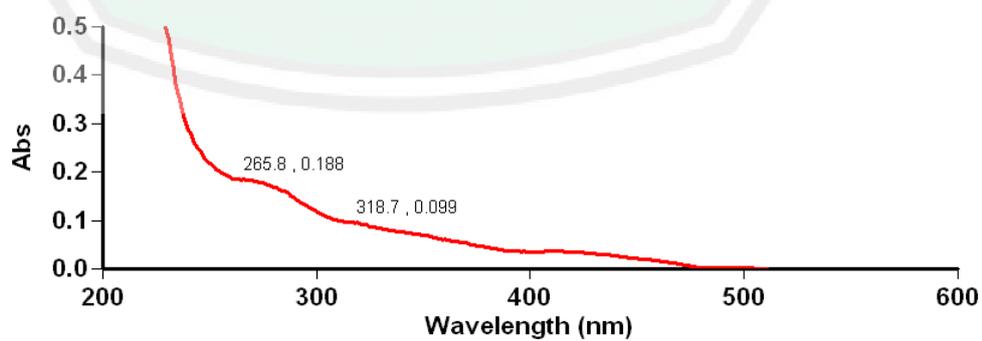
1. Lamdha Maksimum Binahong Isolat 4



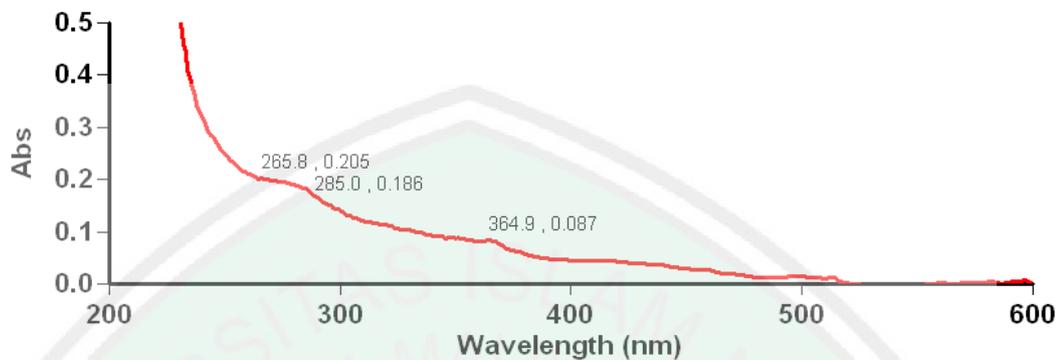
2. Lamdha Maksimum Binahong Isolat 4+NaOH



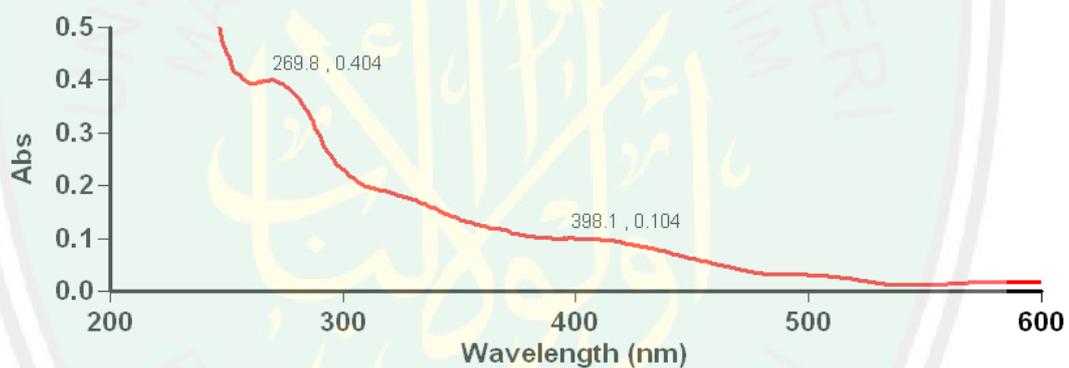
3. Lamdha Maksimum Binahong Isolat 4+AlCl₃



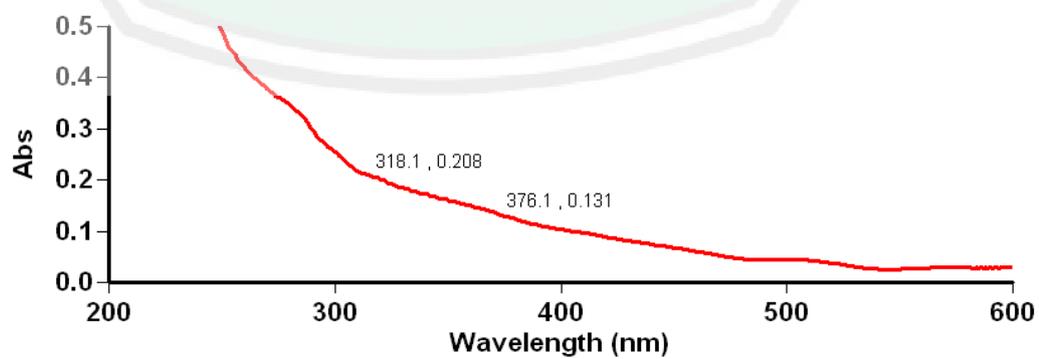
4. Lamdha Maksimum Binahong Isolat 4+AlCl₃+HCl

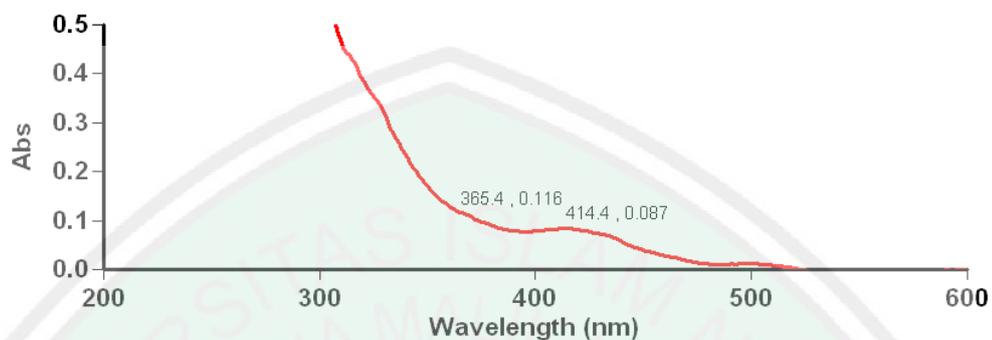
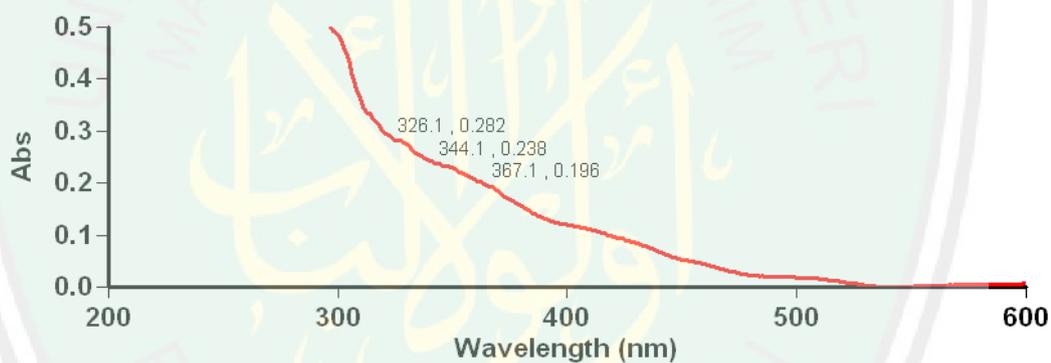
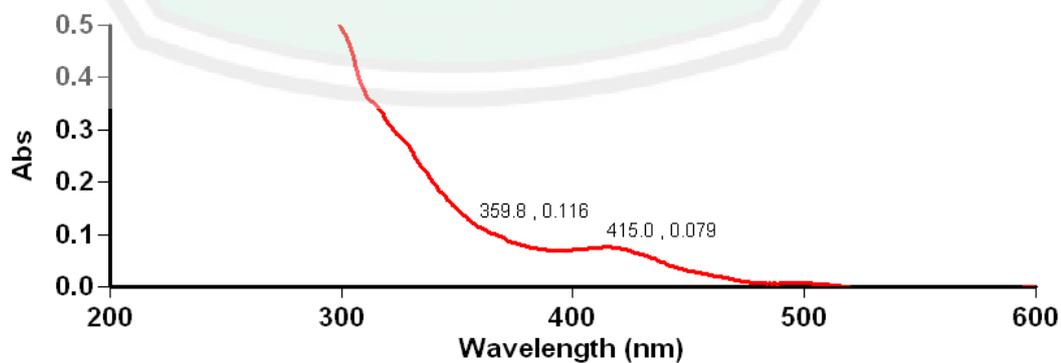


5. Lamdha Maksimum Binahong Isolat 4+CH₃COONa

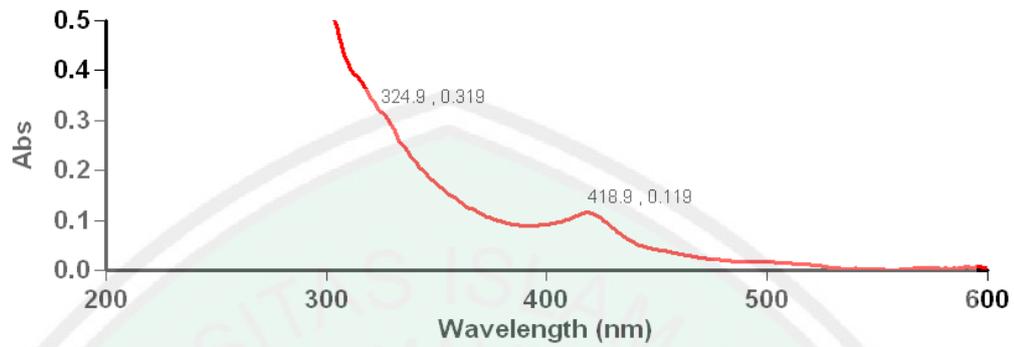


6. Lamdha Maksimum Binahong Isolat 4+CH₃COONa+HBO₃

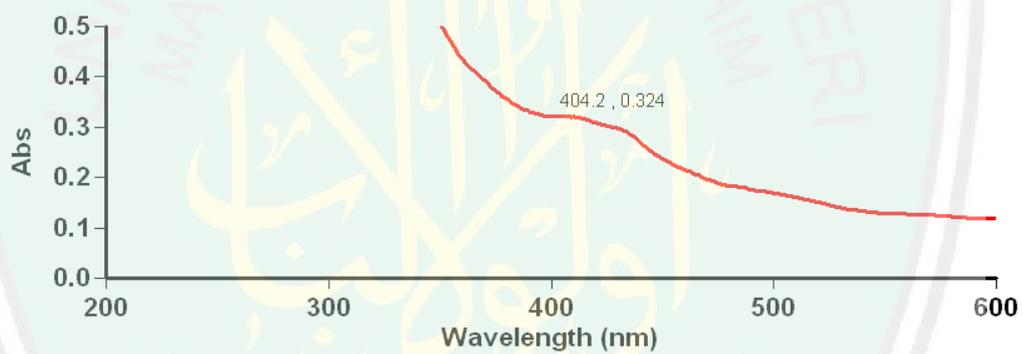


L.10.3 Isolat 5**1. Lamdha Maksimum Binahong Isolat 5****2. Lamdha Maksimum Binahong Isolat 5+NaOH****3. Lamdha Maksimum Binahong Isolat 5+AlCl₃**

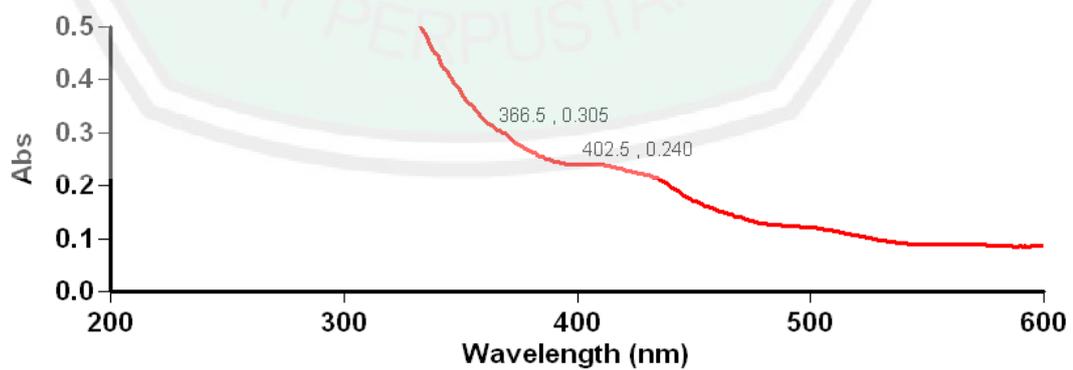
4. Lamdha Maksimum Binahong Isolat 5+AlCl₃+HCl



5. Lamdha Maksimum Binahong Isolat 5+CH₃COONa



6. Lamdha Maksimum Binahong Isolat 5+CH₃COONa+HBO₃



Lampiran 11. Hasil Pengujian firokimia dengan Reagen

Jenis Golongan		Warna Awal	Warna Akhir	(+/-)
Alkaloid	Mayer	Kuning emas	Endapan Jingga	+
	Dragendroff	Kuning emas	Endapan Kekuning-kuningan	+
Flavonoid		Kuning emas	Jingga	++
Tanin		Kuning emas	Hijau Kehitaman	+
Saponin		Kuning emas	Busa Tetap Stabil	+
Terpenoid		Kuning emas	Cincin Kecoklatan	+

Keterangan +++ = Sangat Banyak
 ++ = Cukup Banyak
 + = Ada
 - = Tidak Ada

Lampiran 12. Perhitungan Rf Hasil KLT Masing – Masing Eluen

$$R_f = \frac{\text{Jarak yang digerakkan oleh senyawa}}{\text{Jarak yang digerakkan oleh permukaan pelarut}}$$

a. Eluen BAA (6:1:2)

1. $R_f \text{ noda 1} = \frac{0,5}{8} = 0,06$

2. $R_f \text{ noda 2} = \frac{7,5}{8} = 0,94$

b. Eluen BAA (4:1:5)

1. $R_f \text{ noda 1} = \frac{3}{8} = 0,38$

2. $R_f \text{ noda 2} = \frac{5,2}{8} = 0,65$

3. $R_f \text{ noda 3} = \frac{5,5}{8} = 0,69$

4. $R_f \text{ noda 4} = \frac{6,5}{8} = 0,81$

5. $R_f \text{ noda 5} = \frac{7,2}{8} = 0,9$

6. $R_f \text{ noda 6} = \frac{7,5}{8} = 0,94$

c. Eluen Methanol:Kloroform (1:39)

1. $R_f \text{ noda 1} = \frac{0,4}{8} = 0,05$

2. $R_f \text{ noda 2} = \frac{0,8}{8} = 0,1$

3. $R_f \text{ noda 3} = \frac{1,3}{8} = 0,16$

4. $R_f \text{ noda 4} = \frac{4,5}{8} = 0,56$

5. $Rf \text{ noda } 5 = \frac{7}{8} = 0,88$

6. $Rf \text{ noda } 6 = \frac{7,7}{8} = 0,96$

d. Eluen Methanol:Kloroform (1:9)

1. $Rf \text{ noda } 1 = \frac{0,3}{8} = 0,04$

2. $Rf \text{ noda } 2 = \frac{7,8}{8} = 0,98$

e. Eluen Methanol:Kloroform (2:3)

1. $Rf \text{ noda } 1 = \frac{0,8}{8} = 0,1$

2. $Rf \text{ noda } 2 = \frac{1,8}{8} = 0,23$

3. $Rf \text{ noda } 3 = \frac{4,5}{8} = 0,56$

4. $Rf \text{ noda } 4 = \frac{6,3}{8} = 0,79$

5. $Rf \text{ noda } 5 = \frac{6,5}{8} = 0,81$

6. $Rf \text{ noda } 6 = \frac{7}{8} = 0,88$

7. $Rf \text{ noda } 7 = \frac{7,5}{8} = 0,94$

8. $Rf \text{ noda } 8 = \frac{7,8}{8} = 0,98$

Lampiran 13. Sertifikat Keterangan Kelayakan Etik


DEPARTEMEN PENDIDIKAN NASIONAL
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
KOMISI ETIK PENELITIAN

**KOMISI ETIK PENELITIAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

**KETERANGAN KELAIKAN ETIK
"ETHICAL CLEARANCE"**

No:221-KEP-UB

**KOMISI ETIK PENELITIAN (ANIMAL CARE AND USE COMMITTEE)
UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

**TELAH MEMPELAJARI SECARA SEKSAMA RANCANGAN PENELITIAN YANG
DIUSULKAN, MAKA DENGAN INI MENYATAKAN BAHWA:**

PENELITIAN BERJUDUL : PENGARUH EKSTRAK ETANOL 70% UMBI BINAHONG
(*Anredera cordifolia (ten) sten*) TERHADAP KADAR
GLUKOSA DARAH, MALONDIALDEHIDA (MDA),
SUPEROKSIDA DISMUTASE (SOD) TIKUS (*Rattus
norvegicus*) DIABETES MELLITUS TIPE I

PENELITI : FERRY PRADANA

UNIT/LEMBAGA/TEMPAT : UNIVERSITAS ISLAM NEGRI MAULANA MALIK
IBRAHIM MALANG

DINYATAKAN : LAIK ETIK

Malang, 24 Maret 2014
Ketua Komisi Etik Penelitian
Universitas Brawijaya


Prof. Dr. drh. Aulanni'am, DES.
NIP. 19600903 198802 2 001



Lampiran 14. Jadwal Kegiatan

Jadwal kegiatan	Agustus	September	Oktober	November	Desember	Januari	Februari	Maret	April	Mei
Pembuatan Proposal	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
Ujian Proposal						■				
Revisi Laporan Proposal						■				
Persiapan Bahan-Bahan							■			
Preparasi Sampel							■			
Analisis Kadar air							■			
Ekstraksi Umbi Binahong							■	■		
Preparasi Hewan Coba							■			
Pembuatan Larutan Alokasan								■		
Pembuatan Tikus DM								■	■	■
Pembuatan Larutan Ekstrak dan Glibenklamid								■		
Terapi Tikus dengan ekstrak								■	■	■
Identifikasi dengan Reagen								■		
Hidrolisis Ekstrak Kasar								■		
KLTA									■	
KLTP									■	
Identifikasi dengan UV									■	
Penyusunan Laporan Skripsi										■

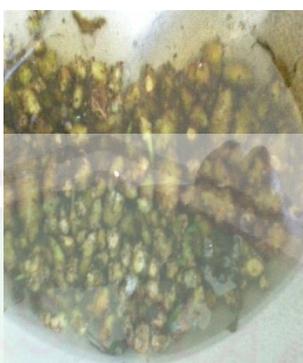


Lampiran 15. Dokumentasi

1. Preparasi Sampel



Sampel Umbi
Binahong



Pencucian Umbi
Binahong



Pengeringan Umbi
Binahong

2. Analisis Kadar Air



Serbuk Umbi Binahong
Setelah di oven

3. Ekstraksi Umbi Binahong



Preparasi Maserasi



Penyaringan



Filtrat 1



Filtrat 1 dan 2



Merotav Filtrat Hasil Maserasi



Ekstrak Kasar Hasil Rotary

4. Uji Antidiabetes



Pengukuran Kadar Glukosa



Pembuatan Larutan Aloksan



Induksi Aloksan



Pembuatan Larutan CMC Na



Pembuatan Larutan Ekstrak Umbi Binahong



Larutan Ekstrak Umbi Binahong



Pembiusan Hewan Coba

Pembedahan Hewan
CobaPengambilan Organ
Hewan Coba

5. Uji Fitokimia



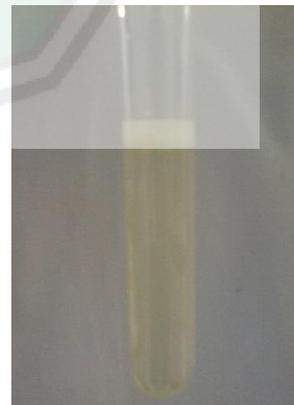
Uji Flavonoid

Uji Alkaloid dengan
DragendorffUji Alkaloid dengan
Mayer

Uji Tanin Katekol



Uji Terpenoid



Uji Saponin

6. Isolasi Flavonoid



Hidrolisis Ekstrak Kasar



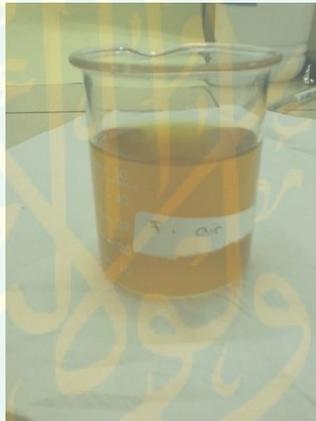
Partisi



Pendiaman



Pemisahan



Fase Air



Fase Organik



Ekstrak Kasar Fase Air



Ekstrak Kasar Fase Organik



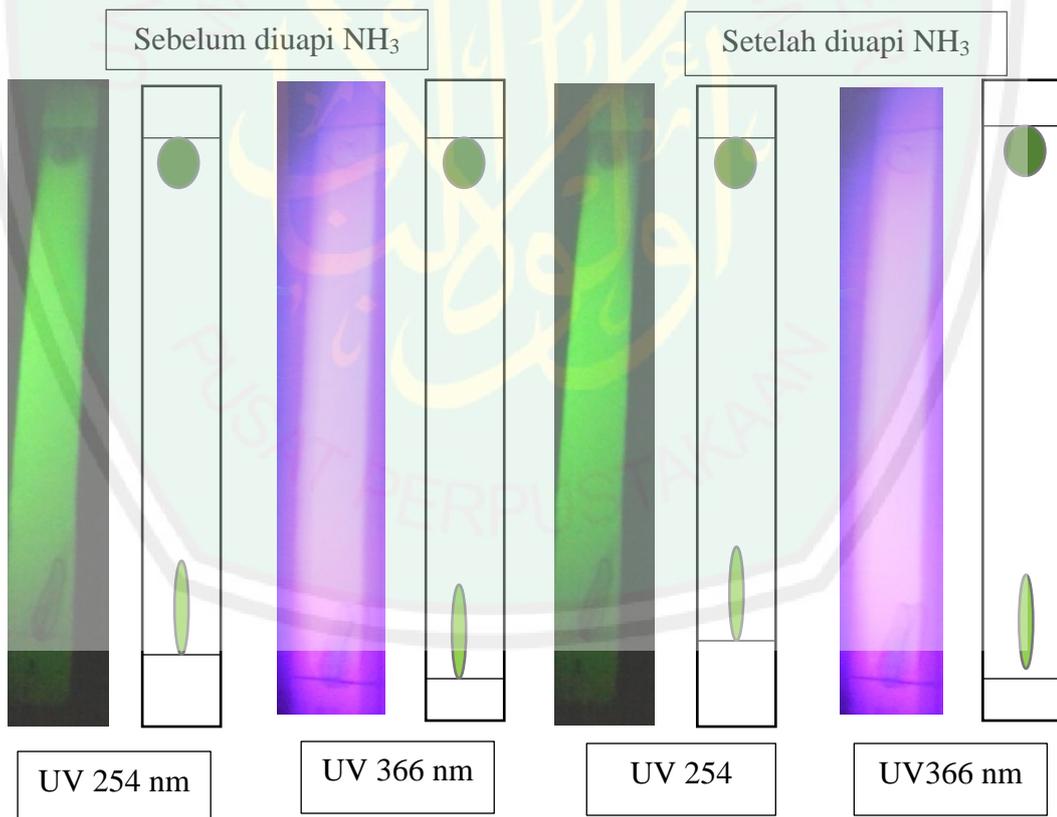
Uji Flavonoid Fase Air



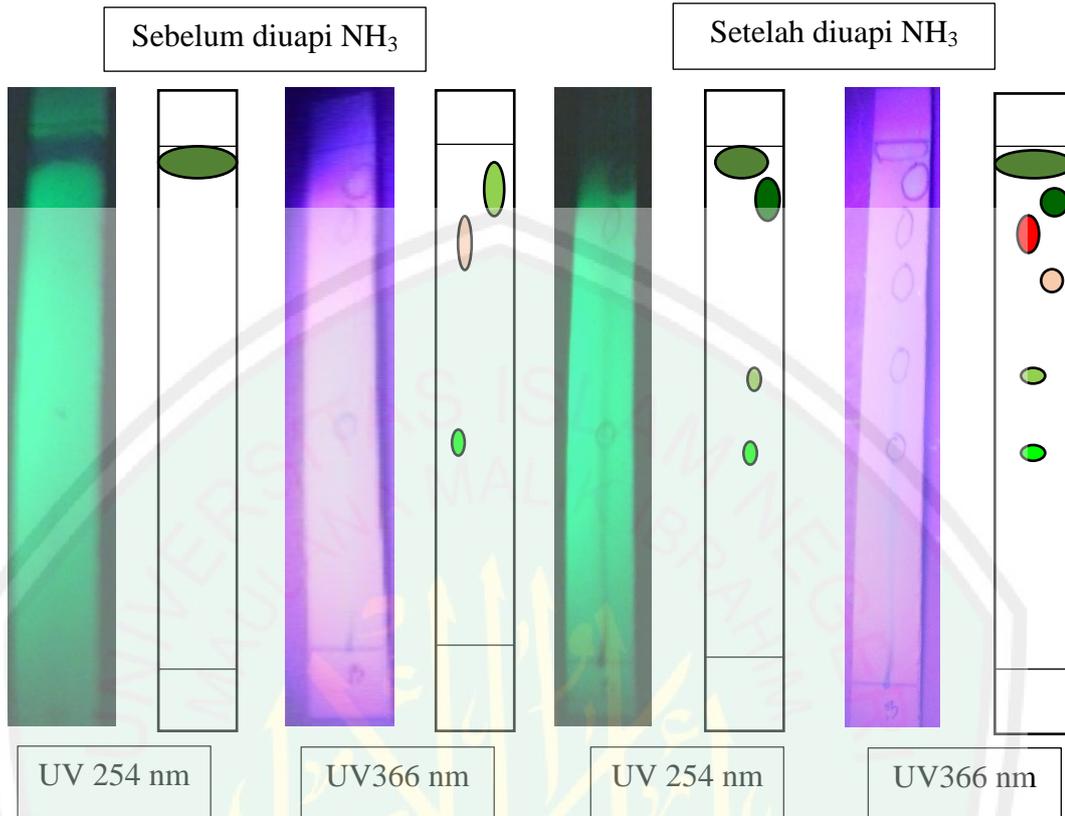
Uji Flavonoid Fase Organik

7. KLTA

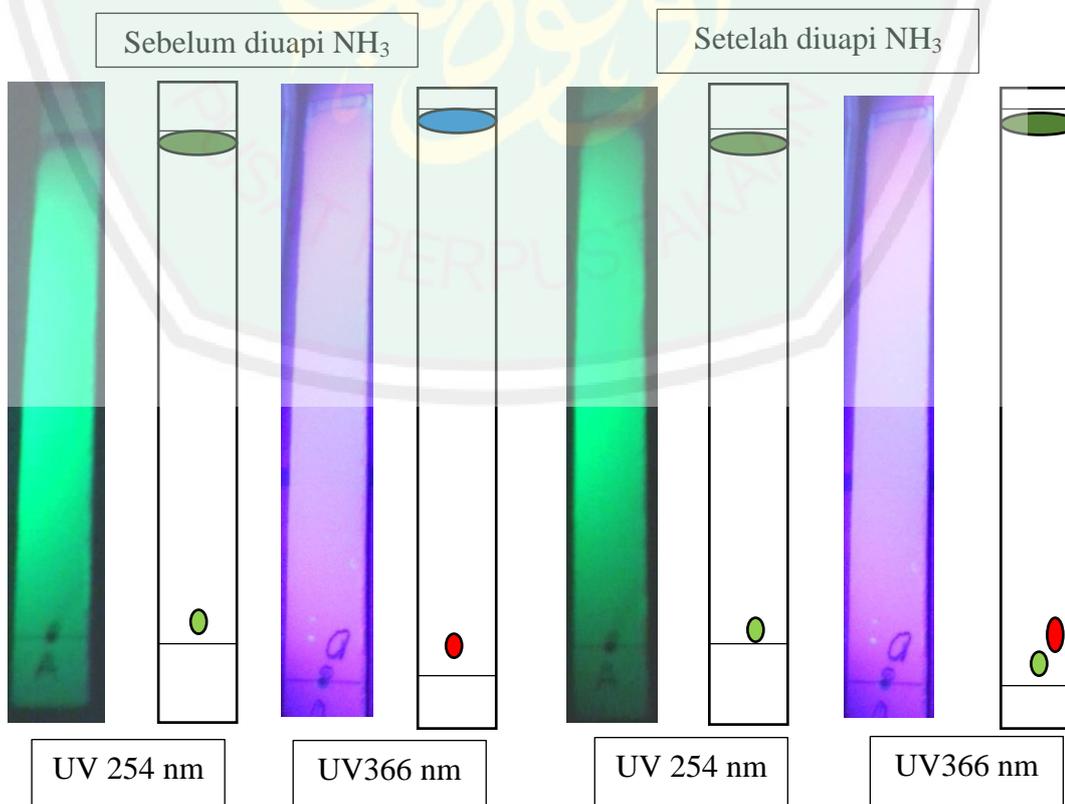
a. KLT dengan eluen Butanol : Asam Asetat : Aquades (6:1:2)



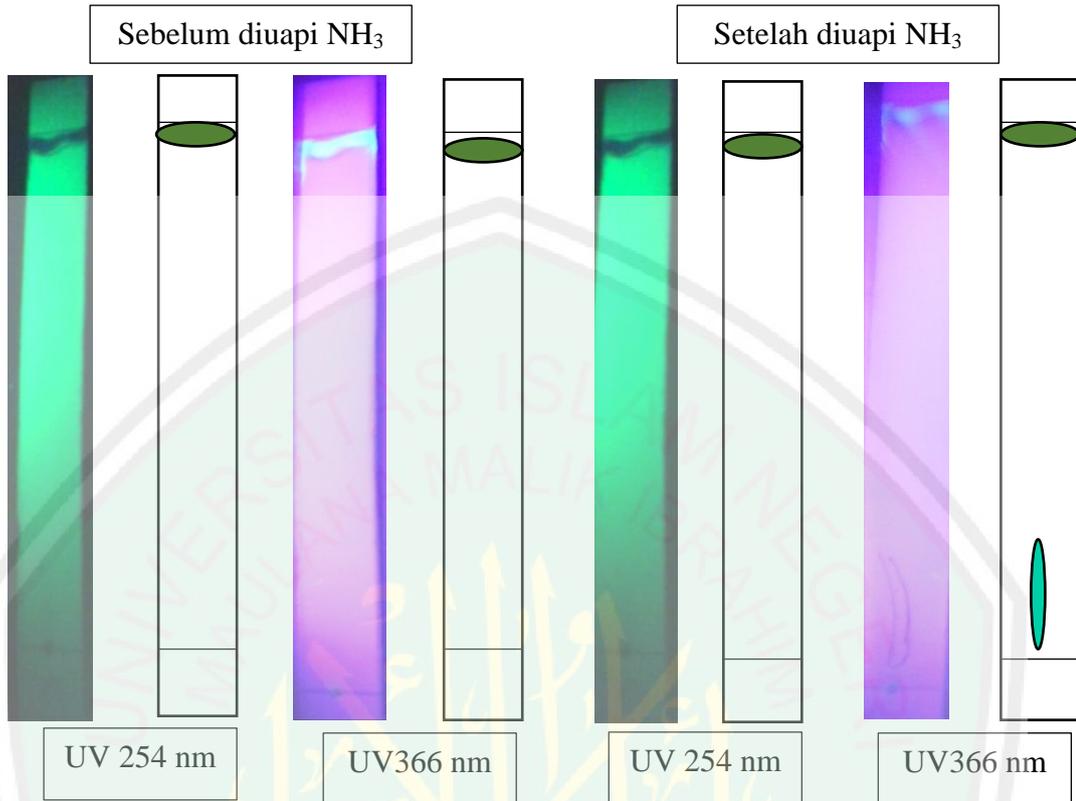
b. KLT dengan eluen Butanol : Asam Asetat : Aquades (4:1:5)



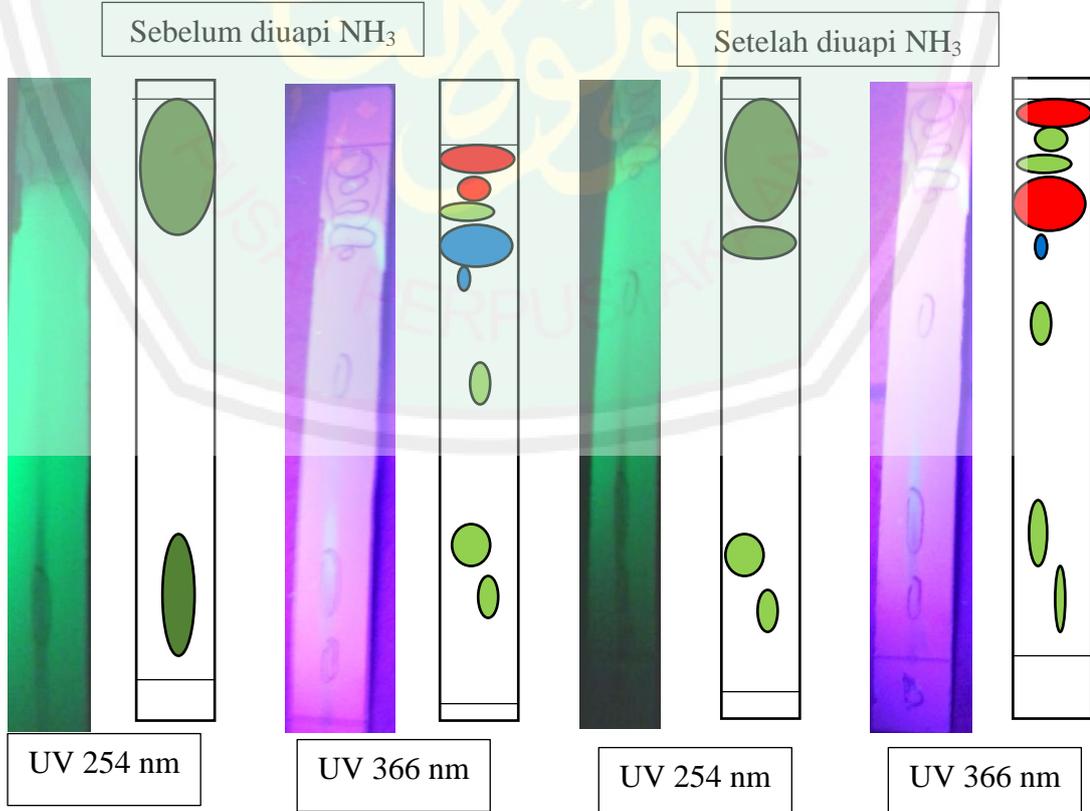
c. KLT dengan eluen Metanol: Kloroform (1:39)



d. KLT dengan eluen Metanol: Kloroform (1:9)



e. KLT dengan eluen Metanol: Kloroform (2:3)



8. KLTP



KLTP Flavonoid
Eluen BAA



KLTP Flavonoid
Eluen BAA



KLTP Flavonoid
Eluen BAA λ 254



KLTP Flavonoid
Eluen BAA λ 254



KLTP Flavonoid
Eluen BAA λ 366



KLTP Flavonoid
Eluen BAA λ 366

Lampiran 16: Perhitungan Standar Deviasi Rata-Rata Kadar Glukosa Darah

$$\bar{x} = \frac{T1 + T2 + T3 + T4}{4}$$

Keterangan:

- \bar{x} : Rerata kadar glukosa
 T1 : kadar glukosa tikus satu
 T2 : kadar glukosa tikus dua
 T3 : kadar glukosa tikus tiga
 T4 : kadar glukosa tikus empat

$$\text{Standar Deviasi} = \sqrt{\frac{\sum (x - \bar{x})^2}{n - 1}}$$

Keterangan

- \bar{x} : Rerata Kadar glukosa
 x : Kadar glukosa
 n : Jumlah tikus

1. Hari ke-0**a. Kontrol Nol**

$$\begin{aligned} \text{Rerata kadar Glukosa} &= \frac{137 + 126 + 113 + 121}{4} \\ &= 124,25 \end{aligned}$$

Standar Deviasi

$$\begin{aligned} &= \sqrt{\frac{(137 - 124,25)^2 + (126 - 124,25)^2 + (113 - 124,25)^2 + (121 - 124,25)^2}{4 - 1}} \\ &= 10,05 \end{aligned}$$

b. Kontrol Negatif

$$\begin{aligned} \text{Rerata kadar Glukosa} &= \frac{105 + 109 + 79 + 119}{4} \\ &= 101,5 \end{aligned}$$

Standar Deviasi

$$= \sqrt{\frac{(105 - 101,5)^2 + (109 - 101,5)^2 + (79 - 101,5)^2 + (119 - 101,5)^2}{4 - 1}}$$

$$= 15,35$$

c. Kontrol Positif

$$\text{Rerata kadar Glukosa} = \frac{109+68+69+102}{4}$$

$$= 87$$

$$\text{Standar Deviasi} = \sqrt{\frac{(109 - 87)^2 + (68 - 87)^2 + (69 - 87)^2 + (102 - 87)^2}{4 - 1}}$$

$$= 21,56$$

d. Kontrol Glibenklamid

$$\text{Rerata kadar Glukosa} = \frac{94 + 106 + 95 + 113}{4}$$

$$= 102$$

Standar Deviasi

$$= \sqrt{\frac{(94 - 102)^2 + (106 - 102)^2 + (95 - 102)^2 + (113 - 102)^2}{4 - 1}}$$

$$= 10,05$$

e. Umbi Binahong 25 mg/kgBB

$$\text{Rerata kadar Glukosa} = \frac{106 + 78 + 106 + 140}{4}$$

$$= 107,5$$

Standar Deviasi

$$= \sqrt{\frac{(106 - 107,5)^2 + (78 - 107,5)^2 + (106 - 107,5)^2 + (140 - 107,5)^2}{4 - 1}}$$

$$= 25,37$$

f. **Umbi Binahong 50 mg/kgBB**

$$\text{Rerata kadar Glukosa} = \frac{92 + 76 + 128 + 77}{4}$$

$$= 93,25$$

Standar Deviasi

$$= \sqrt{\frac{(92 - 93,25)^2 + (76 - 93,25)^2 + (128 - 93,25)^2 + (77 - 93,25)^2}{4 - 1}}$$

$$= 24,30$$

g. **Umbi Binahong 75 mg/kgBB**

$$\text{Rerata kadar Glukosa} = \frac{86 + 61 + 118 + 87}{4}$$

$$= 88$$

$$\text{Standar Deviasi} = \sqrt{\frac{(86 - 88)^2 + (61 - 88)^2 + (118 - 88)^2 + (87 - 88)^2}{4 - 1}}$$

$$= 23,34$$

2. Hari ke-1

a. Kontrol Nol

$$\begin{aligned} \text{Rerata kadar Glukosa} &= \frac{127 + 107 + 115 + 118}{4} \\ &= 117,25 \end{aligned}$$

Standar Deviasi

$$\begin{aligned} &= \sqrt{\frac{(127 - 117,25)^2 + (107 - 117,25)^2 + (115 - 117,25)^2 + (118 - 117,25)^2}{4 - 1}} \\ &= 8,28 \end{aligned}$$

b. Kontrol Negatif

$$\begin{aligned} \text{Rerata kadar Glukosa} &= \frac{100+63+151+143}{4} \\ &= 114,25 \end{aligned}$$

Standar Deviasi

$$\begin{aligned} &= \sqrt{\frac{(100 - 114,25)^2 + (63 - 114,25)^2 + (151 - 114,25)^2 + (143 - 114,25)^2}{4 - 1}} \\ &= 40,85 \end{aligned}$$

c. Kontrol Positif

$$\begin{aligned} \text{Rerata kadar Glukosa} &= \frac{392+400+513+473}{4} \\ &= 444,5 \end{aligned}$$

Standar Deviasi

$$= \sqrt{\frac{(392 - 444,5)^2 + (400 - 444,5)^2 + (513 - 444,5)^2 + (473 - 444,5)^2}{4 - 1}}$$

$$= 58,44$$

d. Kontrol Glibenklamid

$$\text{Rerata kadar Glukosa} = \frac{328 + 309 + 310 + 437}{4}$$

$$= 346$$

Standar Deviasi

$$= \sqrt{\frac{(328 - 346)^2 + (309 - 346)^2 + (310 - 346)^2 + (437 - 346)^2}{4 - 1}}$$

$$= 61,29$$

e. Umbi Binahong 25 mg/kgBB

$$\text{Rerata kadar Glukosa} = \frac{452 + 522 + 513 + 443}{4}$$

$$= 482,5$$

Standar Deviasi

$$= \sqrt{\frac{(452 - 482,5)^2 + (522 - 482,5)^2 + (513 - 482,5)^2 + (443 - 482,5)^2}{4 - 1}}$$

$$= 40,74$$

f. **Umbi Binahong 50 mg/kgBB**

$$\begin{aligned} \text{Rerata kadar Glukosa} &= \frac{463 + 429 + 317 + 464}{4} \\ &= 418,25 \end{aligned}$$

Standar Deviasi

$$\begin{aligned} &= \sqrt{\frac{(463 - 418,25)^2 + (429 - 418,25)^2 + (317 - 418,25)^2 + (464 - 418,25)^2}{4 - 1}} \\ &= 70,33 \end{aligned}$$

g. **Umbi Binahong 75 mg/kgBB**

$$\begin{aligned} \text{Rerata kadar Glukosa} &= \frac{350 + 488 + 336 + 600}{4} \\ &= 443,5 \end{aligned}$$

Standar Deviasi

$$\begin{aligned} &= \sqrt{\frac{(350 - 443,5)^2 + (488 - 443,5)^2 + (336 - 443,5)^2 + (600 - 443,5)^2}{4 - 1}} \\ &= 124,86 \end{aligned}$$

3. **Hari ke-7**

a. **Kontrol Nol**

$$\begin{aligned} \text{Rerata kadar Glukosa} &= \frac{67+98+101+91}{4} \\ &= 89,25 \end{aligned}$$

Standar Deviasi

$$= \sqrt{\frac{(67 - 89,25)^2 + (98 - 89,25)^2 + (101 - 89,25)^2 + (91 - 89,25)^2}{4 - 1}}$$

$$= 15,41$$

b. Kontrol Negatif

$$\text{Rerata kadar Glukosa} = \frac{83+60+69+85}{4}$$

$$= 74,25$$

Standar Deviasi

$$= \sqrt{\frac{(83 - 74,25)^2 + (60 - 74,25)^2 + (69 - 74,25)^2 + (85 - 74,25)^2}{4 - 1}}$$

$$= 11,87$$

c. Kontrol Positif

$$\text{Rerata kadar Glukosa} = \frac{336+247+282+349}{4}$$

$$= 303,5$$

Standar Deviasi

$$= \sqrt{\frac{(336,5 - 303,5)^2 + (247 - 303,5)^2 + (282 - 303,5)^2 + (349 - 303,5)^2}{4 - 1}}$$

$$= 47,54$$

d. Kontrol Glibenklamid

$$\text{Rerata kadar Glukosa} = \frac{555 + 470 + 270 + 505}{4}$$

$$= 450$$

Standar Deviasi

$$= \sqrt{\frac{(555 - 450)^2 + (470 - 450)^2 + (270 - 450)^2 + (505 - 450)^2}{4 - 1}}$$

$$= 124,97$$

e. Umbi Binahong 25 mg/kgBB

$$\text{Rerata kadar Glukosa} = \frac{455 + 380 + 298 + 397}{4}$$

$$= 382,5$$

Standar Deviasi

$$= \sqrt{\frac{(455 - 382,5)^2 + (380 - 382,5)^2 + (298 - 382,5)^2 + (397 - 382,5)^2}{4 - 1}}$$

$$= 64,84$$

f. Umbi Binahong 50 mg/kgBB

$$\text{Rerata kadar Glukosa} = \frac{414 + 292 + 152 + 367}{4}$$

$$= 306,25$$

Standar Deviasi

$$= \sqrt{\frac{(414 - 306,25)^2 + (292 - 306,25)^2 + (152 - 306,25)^2 + (367 - 306,25)^2}{4 - 1}}$$

$$= 114,45$$

g. Umbi Binahong 75 mg/kgBB

$$\begin{aligned} \text{Rerata kadar Glukosa} &= \frac{270 + 329 + 147 + 438}{4} \\ &= 296 \end{aligned}$$

Standar Deviasi

$$\begin{aligned} &= \sqrt{\frac{(270 - 296)^2 + (329 - 296)^2 + (147 - 296)^2 + (438 - 296)^2}{4 - 1}} \\ &= 121,29 \end{aligned}$$

4. Hari ke-14

a. Kontrol Nol

$$\begin{aligned} \text{Rerata kadar Glukosa} &= \frac{122+122+117+88}{4} \\ &= 112,25 \end{aligned}$$

Standar Deviasi

$$\begin{aligned} &= \sqrt{\frac{(122 - 112,25)^2 + (122 - 112,25)^2 + (117 - 112,25)^2 + (88 - 112,25)^2}{4 - 1}} \\ &= 16,34 \end{aligned}$$

b. Kontrol Negatif

$$\begin{aligned} \text{Rerata kadar Glukosa} &= \frac{125+120+120+122}{4} \\ &= 121,75 \end{aligned}$$

Standar Deviasi

$$= \sqrt{\frac{(125 - 121,75)^2 + (120 - 121,75)^2 + (120 - 121,75)^2 + (122 - 121,75)^2}{4 - 1}}$$

$$= 2,36$$

c. Kontrol Positif

$$\text{Rerata kadar Glukosa} = \frac{109+68+69+102}{4}$$

$$= 87$$

$$\text{Standar Deviasi} = \sqrt{\frac{(109 - 87)^2 + (68 - 87)^2 + (69 - 87)^2 + (102 - 87)^2}{4 - 1}}$$

$$= 21,56$$

d. Kontrol Glibenklamid

$$\text{Rerata kadar Glukosa} = \frac{475 + 313 + 359 + 200}{4}$$

$$= 336,75$$

Standar Deviasi

$$= \sqrt{\frac{(475 - 336,75)^2 + (313 - 336,75)^2 + (359 - 336,75)^2 + (200 - 336,75)^2}{4 - 1}}$$

$$= 113,83$$

e. Umbi Binahong 25 mg/kgBB

$$\text{Rerata kadar Glukosa} = \frac{211 + 198 + 146 + 146}{4}$$

$$= 175,25$$

Standar Deviasi

$$= \sqrt{\frac{(211 - 175,25)^2 + (198 - 175,25)^2 + (146 - 175,25)^2 + (146 - 175,25)^2}{4 - 1}}$$

$$= 34,20$$

f. Umbi Binahong 50 mg/kgBB

$$\text{Rerata kadar Glukosa} = \frac{404 + 292 + 134 + 216}{4}$$

$$= 261,5$$

Standar Deviasi

$$= \sqrt{\frac{(404 - 261,5)^2 + (292 - 261,5)^2 + (134 - 261,5)^2 + (216 - 261,5)^2}{4 - 1}}$$

$$= 119,11$$

g. Umbi Binahong 75 mg/kgBB

$$\text{Rerata kadar Glukosa} = \frac{108 + 74 + 96 + 269}{4}$$

$$= 136,75$$

Standar Deviasi

$$= \sqrt{\frac{(108 - 136,75)^2 + (74 - 136,75)^2 + (96 - 136,75)^2 + (269 - 136,75)^2}{4 - 1}}$$

$$= 89,28$$